

THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

pour le grade de

DOCTEUR DES UNIVERSITÉS DE RENNES 1 (*Mention : Biologie*) **Ecole**
doctorale Vie Agro Santé (VAS)

ET D'ANTANANARIVO (*Option Biologie, Ecologie et Conservation Animales*)

Présentée par

Radosoa A. Andrianainivoarivelo

Préparée à l'unité de recherche UMR 6553 ECOBIO « Ecosystème Biodiversité
Evolution » et au Département de Biologie Animale, Université
d'Antananarivo

Intitulé de la thèse :
Ecologie et population
de *Rousettus*
***madagascariensis* G.**
Grandidier, 1928
(Pteropodidae)

Thèse soutenue à la Station Biologique de
Paimpont (35380)
le 26 janvier 2012

devant le jury composé de :

Stéphane AULAGNIER

Professeur, Université Paul Sabatier, Toulouse / *rapporteur*

Hajanirina RAKOTOMANANA

Professeur, Université d'Antananarivo / *examinateur*

Nelly MENARD

Directrice de recherche, CNRS, Rennes / *examinateur*

Noromalala RAMINOSOA

Professeur, Université d'Antananarivo / *examinateur*

Jean-Marc PONS

Maître de conférences, Museum National d'Histoire Naturelle,
Paris / *examinateur*

Eric J. PETIT

Maître de Conférences, Université Rennes 1 / *co-directeur de*
thèse

Steven M. GOODMAN

Docteur, MacArthur Field Biologist, Field Museum/ *co-directeur*
de these (invité)

Stéphanie Carrière

Docteur, Chargée de Recherche, IRD, Montpellier/ *Rapporteur*
(invitée)

PREFACE

Les travaux de cette thèse ont été menés en cotutelle entre l'UMR 6553 ECOBIO, laboratoire de l'Université de Rennes 1 et du CNRS (France) et le Département de Biologie Animale (Option Biologie, Ecologie et Conservation Animales) de l'Université d'Antananarivo (Madagascar), sous la supervision du Dr Eric J. Petit et du Dr Steven M. Goodman, respectivement. La collecte de données, les analyses en laboratoire ont été réalisés avec plusieurs équipes de chercheurs. Aucune partie de cette thèse n'a été soumise pour un degré ou toute autre qualification auprès d'autres universités.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué en cotutelle entre le Département ECOBIO, Option Biologie, Université de Rennes 1 et le Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo. Il a été dirigé par Eric J. Petit (Université de Rennes 1) et Steven M. Goodman (Université d'Antananarivo). Je les en remercie sincèrement. J'adresse encore ma profonde gratitude à Eric J. Petit pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et qui m'a énormément aidé et soutenu dans toutes mes démarches pour mon inscription à l'Université de Rennes 1 dans le cadre de cette cotutelle et pour l'obtention de mon visa d'entrée en France.

Un hommage à Olga Ramilijaona, mon premier encadrant qui s'est beaucoup investi dans ces travaux de thèse et qui malheureusement n'est plus là pour voir le travail achevé.

Je remercie Hajanirina Rakotomanana, Jean-Marc Pons, Nelly Menard, Noromalala Raminosoa Andriamampionona, membres du jury pour le temps qu'ils ont accordé à l'évaluation de mon travail et pour avoir lu les quelques 174 pages qui suivent celle-ci. Merci à Stéphane Aulagnier et Stéphanie Carrière pour avoir participé à ce jury en tant que rapporteurs. J'espère avoir été à la hauteur.

Je remercie Paul A. Racey qui a su éveiller en moi, dès mes débuts dans la recherche (vers l'année 2000), une véritable passion pour les chauves-souris. Grâce à lui, j'ai été initié à la recherche et à la conservation des chauves-souris malgaches. Il m'a permis d'entreprendre plusieurs séjours à l'extérieur pour approfondir mes connaissances et m'a sans aucun doute apporté, à travers les centaines d'heures passées ensemble, sur le terrain ou au bureau, une vision plus approfondie de la complexité de la biologie des chauves-souris.

J'exprime ici mon admiration pour Richard K. B. Jenkins, ancien Directeur de Madagasikara Voakajy. Ecouter, observer, comprendre, retranscrire avec à-propos sont ses maîtres mots. Qu'il reçoive l'expression de toute ma reconnaissance pour m'avoir conseillé lors de la rédaction des différents chapitres de cette thèse, et pour avoir donné de son dynamisme et de ses compétences scientifiques afin de trouver les fonds nécessaires à mes recherches. Il m'a accordé du temps pour assister à des ateliers, des conférences et des formations aussi bien à Madagascar qu'à l'extérieur pour renforcer mes capacités et me donner les compétences nécessaires à mes travaux de doctorat et à mon développement professionnel.

Les équipes de Madagasikara Voakajy et de Lamin'asa Fiarovana Ramanavy ont aussi grandement participé aux collectes des données sur terrain, particulièrement la capture de

milliers de chauves-souris. Je pense notamment à Amyot F. Kofoky, Andrinajoro R. Rakotoarivelo, Daudet Andriafidison, Fanja H. Ratrimomanarivo, Félicien H. Randrianandrianina, Irma Raharinantenaina, Julie Razafimanahaka, Mahefatiana Ralisata, Noromampiantra Razafindrakoto, Roseline L. Rampilamanana, Tojo Mihangihajason, Tsibara Mbohoahy et Victor Rakotomboavonjy, sans oublier les infatigables chauffeurs Rado Andriamihaja et Olivier M. Randrianarimanana. Je n'oublierai jamais les moments difficiles passés ensemble sur le terrain, la nuit avec les chauves-souris agitées, à récupérer à des endroits escarpés et parfois dangereux. Je pense et remercie tout spécialement Andrinajoro R. Rakotoarivelo, Félicien H. Randrianandrianina, Haingo Rabe, Roseline L. Rampilamanana et Victor Rakotomboavonjy qui nous ont entre autre accompagnés à Maromizaha (Commune Andasibe) pendant plusieurs nuits pluvieuses sur des pentes glissantes pour suivre les déplacements des chauves-souris par radio-téléométrie et pour le courage dont ils ont fait preuve. Ils ont tous eu un rôle important dans la réussite de ces missions et se sont démenés pour que l'on puisse faire le maximum, au prix de leur sommeil.

Merci à Mahefatiana Ralisata avec qui j'ai partagé le bureau chez Madagasikara Voakajy, pour nos conversations, scientifiques ou pas et aux bons souvenirs que tu m'as laissés. J'aurais beaucoup aimé capturer les *Myzopoda aurita* à tes côtés. Avec moi tu aurais eu la chance de capturer les femelles de cette espèce.

J'adresse à Noromampiantra Razafindrakoto tous mes remerciements pour sa précieuse collaboration à la détermination taxinomique des échantillons des plantes collectés sur les terrains et les graines accompagnant les fecès de *Rousettus madagascariensis*.

Merci à Tefimanana dit Faralahy, pour avoir accepté de rester seul dans la petite toile de tente pour garder un œil sur la camera de surveillance des animaux visiteurs des fruits et le moniteur, le fou à lier avec qui j'ai passé d'excellents moments, celui qui a promu la dégustation d'une matavikely (*Rousettus madagascariensis*) grillée, morte après sa capture.

Merci à ceux qui ont contribué directement ou indirectement à la réussite de ces missions de terrain. Assurer la logistique est un métier difficile où réussir signifie passer inaperçu. En cela, j'exprime donc toute la reconnaissance que méritent le personnel administratif de l'organisation Madagasikara Voakajy, notamment Mhy Andriamampionona, Hubert Ratsimbazafy et Nathalie Rampilamanana pour leur sens de l'improvisation et leurs efforts constants pour faciliter le bon déroulement des missions et de l'administration.

Merci à l'équipe Vahatra pour les précieuses données qui ont complétées les bases utilisées. Christophe Rahaingonirina et Sylvestre Raharimbola, membres de l'association

Mbarakaly nous ont beaucoup aidés pour atteindre les trois gîtes, faisant partie des plus difficiles à accéder des gîtes de *Rousettus madagascariensis*.

Je remercie les très accueillants et sympathiques guides locaux en particulier Ravony, Rakotondranaivo et Andisonina qui travaillent respectivement à Sahavao, Ambohimanjaka (Commune Tsaravinany), et Antsahahety (Commune Ampasimaneva).

J'exprime toute mon amitié à Edward E. Louis, de l'ONG « Madagascar Biodiversity Partner » (MBP), conservationniste-généticien du Centre de Recherche et de Conservation du Zoo de Omaha (CRC Omaha Zoo) pour m'avoir proposé et aidé à venir à Nebraska (EU). Je lui suis reconnaissant pour la patience dont il a fait preuve envers moi lors des études sur la génétique de population au laboratoire. Il m'a permis de réaliser au total quatre voyages aux Etats-Unis, sans oublier mon voyage de retour à Madagascar qu'il a payé pour que je puisse assister aux funérailles de mon père (02-03 septembre 2007). Malgré ce sombre moment, je garderai des souvenirs impérissables de ces expériences qui ont contribué à mon développement personnel.

Many thanks Susie S. McGuire et Garry D. Shore, employés du laboratoire du CRC Omaha Zoo pour les conseils et aides au cours du développement et du génotypage des 22 microsatellites utilisées dans ce mémoire ainsi que pour votre gentillesse et votre générosité. Je suis reconnaissant envers Rick A. Berenneman (CRC Omaha Zoo) pour l'aide à la rédaction des manuscrits sur la génétique de population de *Rousettus madagascariensis*. Malgré nos efforts, l'un des manuscrits a été refusé à deux reprises par les éditeurs. Merci à Georges P. Emodi, ton superbe talent pour les travaux en laboratoire de génétique me faisait croire que tu aurais pratiqué ton tour de magie pour faire réussir les PCRing de certains génotypes difficiles.

Toute mon amitié à Mathiew Laparie, Céline Genton et Charlene Briard avec qui j'ai partagé le bureau pendant cinq mois et eu tant de discussions fructueuses lors de mes séjours à la Station Biologique de Paimpont. Je remercie Daniel Cluzeau, Directeur de la Station Biologique de Paimpont qui m'a délivré une attestation d'hébergement à la Station.

Merci à Julie Pomerantz, les billets d'avion m'ont été d'un grand secours. Tu as naturellement proposé de me donner quelques bonus de ton vol Air France pour acheter mes billets d'avion aller-retour France Madagascar. Ton aide m'a tout simplement permis de relever la tête. Je tenais à t'exprimer ma reconnaissance pour ce qui s'avère être une réelle preuve d'amitié. Je n'oublierai jamais ton geste. Malgré les randonnées nocturnes que nous avons faites ensemble, tu n'as pas encore eu l'occasion de voir les chauves-souris frugivores malgaches. Ce n'est que partie remise.

Une fois de plus, je tiens à remercier Léon M. Ngoua et sa maman Annick Fretay. Les seules personnes toujours présentes à la Station Biologique de Paimpont. C'est un peu fou à dire, mais, après tous ces mois, je réalise vraiment ce que signifie avoir des voisins et je me suis senti moins seul en vous sachant présents.

La collecte des données à Madagascar a été financée par : Bat Conservation International, British Petroleum Conservation Programme actuellement nommé Conservation Leadership Programme, Colombus Zoo ; Darwin Initiative, Disney Worldwide Conservation Fund ; Idea Wild ; International Foundation for Science (IFS) ; National Geographic Society Conservation Trust ; Rufford Small Grants et Wildlife Conservation Society Small Grants. L'Observatoire des Sciences de l'Univers de Rennes (OSUR) a financé mon séjour en France et les frais de déplacement des membres du jury par la Bourse de Mobilité entrante (Université de Rennes 1). L'étude sur la génétique de population réalisée à Omaha a été financée par la fondation de la famille Theodore F. et Claire M. Hubbard.

Le Tout Puissant m'a permis d'arriver jusqu'ici. Une pensée pour Anita Rafanomezantsoa, ma compagne et ma conseillère. Je la remercie infiniment pour les instants inoubliables que nous avons partagés et pour tout ce qu'elle représente à mes yeux. Merci de m'avoir attendu pendant mes longs séjours à l'étranger et sur le terrain.

Je finis par remercier ma mère, Julienne Razanarivelo, mes quatre sœurs Tiana, Rota, Tahiana et Maholy et mon frère Riana pour leur soutien indéfectible, « misaotra betsaka an'i Neny ary mahereza foana indrindra amin'ny fitondrana amim-bavaka, tsy hadinoko mihitsy ny nahitako an'i Dada farany teny Ivato ». Mon père Josoa Andrianaivosoa avant sa mort m'a toujours supporté dans tout ce que j'ai entrepris.

Mes vifs remerciements vont également à tous ceux qui ont de près ou de loin contribué à la réalisation de ce travail.

RÉSUMÉ

La perte d'habitat et la déforestation sont les principales menaces qui pèsent sur la biodiversité Malgache. Ces processus sont responsables du déclin d'un nombre important d'espèces. Cependant, les mécanismes de ce déclin ne sont pas encore complètement élucidés. En utilisant la roussette malgache (*Rousettus madagascariensis*) comme un modèle d'organisme, nous nous sommes attachés à étudier les réponses écologiques et génétiques de cette espèce dans des paysages naturels et des paysages modifiés par l'homme et présentant divers types de caractères physico-climatiques à Madagascar. Ayant une large distribution, cette espèce est endémique à Madagascar et assure potentiellement un rôle important dans la régénération naturelle des forêts malgaches. A partir de l'utilisation de la radio télémétrie, d'analyses des matières fécales, d'études moléculaires et de mesures morphométriques nous avons pu examiner le mode de dispersion et l'écologie de cette espèce. L'observation des animaux en volière a fourni des informations importantes sur son choix alimentaire entre plantes autochtones et celles à valeur économique. Dans cette étude, nous avons ainsi mis en évidence : i) que *Rousettus madagascariensis* utilise les habitats forestiers et ceux modifiés par l'homme pour s'alimenter ; ii) qu'elle a une préférence plus marquée envers les espèces forestières et pionnières qu'envers celles d'importance commerciale ; iii) qu'elle présente une faible mais significative structuration génétique ; iv) mais une variation morphométrique, qui est dépendante de la latitude et de l'altitude.

Mots-clés : Climat ; Déforestation ; Dispersion ; Espèces endémiques ; Fruits ; Génétique moléculaire ; Morphologie

SUMMARY

Forest habitat loss and associated changes in floristic composition are the major threats to the Malagasy terrestrial biodiversity. These processes are responsible for the decline of numerous species. However, for the vast majority of taxa, the mechanisms triggering these declines are poorly understood. Using the Malagasy rousette (*Rousettus madagascariensis*) as our model organism, we examine different genetic and ecological aspects of how this animal lives in natural habitats and copes with human modified landscapes of different physical and bioclimatic characteristics. This endemic species has a broad distribution, and appears to play a role in the regeneration of native forest. Through radio telemetry, faecal sample analysis, molecular genetics, and morphometric data, we were able to understand different aspects of the life-history traits and dispersal patterns of this taxon. Observations of wild animal placed in flight cages provided important inference on its feeding preferences between native and introduced plants, with economic value. Results indicate that *R. madagascariensis* i) uses both : the forest and human modified habitats while foraging; ii) it has a feeding preference for fruits of forest and pioneers species, as compared to plants of commercial importance; iii) it shows weak genetic structure, which is not associated with geographical distance; iv) and morphological variation that correlates with clines in altitude and latitude.

Key words : Climate; Deforestation; Dispersion; Endemic species ; Fruits; Molecular genetics; Morphology

SOMMAIRE

CHAPITRE I : INTRODUCTION GENERALE.....	1
1.1 LES CHAUVES-SOURIS MALGACHES.....	1
1.2. ORIGINE ET DISPERSION DES CHAUVES-SOURIS FRUGIVORES MALGACHES ET AFRICAINES.....	2
1.3. PRESENTATION DE <i>Rousettus madagascariensis</i> G. Grandidier, 1928	4
1.4. CONNAISSANCES ACTUELLES SUR L'HABITAT ET L'ÉCOLOGIE DE <i>Rousettus madagascariensis</i>	6
1.5. ENJEUX DE CONSERVATION DES CHAUVES-SOURIS A MADAGASCAR	8
1.6. OBJECTIFS DE L'ETUDE	10
1.7. REFERENCES.....	12
 CHAPITRE II : FEEDING ECOLOGY, HABITAT USE AND REPRODUCTION OF <i>Rousettus madagascariensis</i> G. GRANDIDIER, 1928 (CHIROPTERA : PTEROPODIDAE) IN EASTERN MADAGASCAR	18
2.1. ABSTRACT	18
2.2. INTRODUCTION.....	20
2.3. MATERIALS AND METHODS	21
2.3.1. Study site.....	21
2.3.2. Mist netting.....	22
2.3.3. Diet : faecal collection.....	23
2.3.4. Diet : fruit transects	24
2.3.5. Diet : germination trials	24
2.3.6. Habitat use : radio tracking and mapping movements.....	25
2.3.7. Breeding biology	25
2.4. RESULTS	26
2.4.1. Diet : species consumed, fruit availability and seed germination.....	26
2.4.2. Habitat use	28
2.4.3. Breeding biology	28
2.5. DISCUSSION	29
2.5.1. Diet and feeding.....	29
2.5.2. Seed dispersal and germination.....	29
2.5.3. Habitat use and movement.....	30
2.5.4. Breeding biology	33
2.6. ACKNOWLEDGEMENTS	35
2.7. REFERENCES.....	35
 CHAPITRE III : <i>Rousettus madagascariensis</i> (CHIROPTERA : PTEROPODIDAE) G. GRANDIDIER, 1928 PREFERS COMMERCIALY UNIMPORTANT FRUITS.....	40
3.1. ABSTRACT	40
3.2. INTRODUCTION.....	42
3.3. METHODS	43
3.3.1. Study site, bat capture and marking techniques.....	43
3.3.2. Fruit species used during the flight cage experiment	44
3.3.3. Flight cage experimental protocol	44
3.3.4. Analysis of Fruit.....	45
3.3.5. Statistical analysis	46
3.4. RESULTS	47
3.4.1. Feeding observations and behaviours	47

3.4.2. The response variables affecting the feeding preference among the bats :.....	47
3.4.3. Fruit characteristics and bat preference	51
3.5. DISCUSSION	52
3.5.1. Feeding preference	52
3.5.2. Conservation management of bats.....	54
3.6. ACKNOWLEDGEMENTS	55
3.7. LITERATURE CITED	55

CHAPITRE IV : ALIMENTATION ET DISPERSION DE GRAINES CHEZ *Rousettus madagascariensis* G. GRANDIDIER, 1928, DANS LE NORD-OUEST DE MADAGASCAR. 60

4.1. RESUME	60
4.2. INTRODUCTION.....	62
4.3. MATERIELS ET METHODES	64
4.3.1. Site d'étude	64
4.3.2. Les espèces de fruits utilisés	64
4.3.3. Catégorisation des fruits et mesure du taux de sucre de la pulpe.....	65
4.3.4. Expérience dans la volière.....	65
4.3.5. Observation de la consommation de fruits par <i>Rousettus madagascariensis</i> dans la nature	68
4.3.6. Observation des fruits récoltés sous les arbres	68
4.3.7. Tests statistiques.....	69
4.4. RESULTATS	69
4.4.1. Résultat des mesures et analyses faites sur les fruits	69
4.4.2. Comportement alimentaire	69
4.4.3. Comparaison en fonction de l'âge et du sexe des individus	73
4.4.4. Aspect quantitatif et qualitatif de l'alimentation des individus laissés dans la volière durant la nuit (expérience 2).	73
4.4.5. Observation des comportements dans la nature et des fruits entamés sur les pieds de <i>Ziziphus jujuba</i>	75
4.5. DISCUSSION	76
4.5.1. Préférence alimentaire entre <i>Ziziphus jujuba</i> et <i>Ficus sakalavarum</i>	76
4.5.2. Influence de stade de murissement des fruits sur l'alimentation de <i>Rousettus madagascariensis</i>	77
4.5.3. Dissémination des graines chez <i>Ficus sakalavarum</i>	78
4. 6. CONCLUSION.....	79
4. 7. REMERCIEMENTS	79
4.7. REFERENCES.....	80

CHAPITRE V : POPULATION GENETICS OF *Rousettus madagascariensis*, G. GRANDIDIER, 1928 (PTEROPODIDAE) 83

SOUS-CHAPITRE V-I : Determination of the microsatellite markers used in the population genetics study.	
Characterization of 22 microsatellite marker loci in the Madagascar rousette (<i>Rousettus madagascariensis</i>).....	83
5.1.1. RESUME.....	83
5.1.2. ACKNOWLEDGEMENTS	87
5.1.3. REFERENCES	88
SOUS-CHAPITRE V-II : POPULATION GENETICS OF <i>Rousettus madagascariensis</i>	90
5.2.1. RESUME.....	90
5.2.2. INTRODUCTION	91
5.2.3. MATERIALS AND METHODS	92
5.2.4. RESULTS.....	95
5.2.5. DISCUSSION.....	98

5.2.6. REFERENCES	100
CHAPITRE VI : ETUDE MORPHOLOGIQUE ET PHENOLOGIE DE LA REPRODUCTION CHEZ <i>Rousettus madagascariensis</i>	105
6.1. RESUME	105
6.2. INTRODUCTION.....	106
6.3. METHODOLOGIE	107
6.3.1. Site d'étude	107
6.3.2. Capture et regroupement des échantillons	107
6.3.3. Détermination du sexe, étude de la reproduction et mensurations	108
6.3.4. Climat	111
6.3.5. Végétation.....	112
6.3.6. Analyses statistique et variables utilisées	113
6.4. RESULTATS	114
6.4.1. Captures	114
6.4.2. Dimorphisme sexuel.....	115
6.4.3. Variations morphométriques en fonction de la saison, de la latitude et de l'altitude	117
6.4.4. Les périodes de reproduction	121
6.4.5. Sex ratio	123
6.5. DISCUSSION	126
6.5.1. Dimorphisme sexuel.....	126
6.5.2. Réponses morphologiques associées à la latitude et l'altitude	127
6.5.3. Variation morphologique saisonnière et spatiale (site biogéographique et site de regroupement géographique).....	129
6.5.4. Reproduction et développement post-natal.....	131
6.5.5. Sex ratio	133
6.5.6. Conclusion.....	133
6.6. REFERENCES.....	134
VII. LA DISCUSSION GENERALE.....	140
7.1. SYNTHESE.....	140
7.2. IMPLICATION SUR LA CONSERVATION	142
7.3. RECOMMANDATIONS POUR LA GESTION DE L'ESPECE ET LES FUTURES RECHERCHES.....	144
7.3.1. Recommandations	144
7.3.2. Futures recherches.....	145
7.4. REFERENCES.....	147
LISTE DES FIGURES	148
LISTE DES TABLEAUX	150
ANNEXES	152

CHAPITRE I : INTRODUCTION GENERALE

1.1 LES CHAUVES-SOURIS MALGACHES

Il existe 44 espèces de chauves-souris à Madagascar (Goodman 2011 ; Goodman *et al.* 2011). Madagascar possède moins d'espèces de chauves-souris que les autres îles tropicales de taille sensiblement similaires (Bornéo à 92 espèces) mais son niveau d'endémisme (72%) est plus élevé, à un niveau inconnu sur les autres îles tropicales du monde. D'autres espèces de chauves-souris restent certainement à découvrir.

La diversité spécifique de l'Est de l'île est moins importante que celle trouvée à l'Ouest (Goodman 2011). A l'Ouest, les sites incluant des roches sédimentaires érodées par l'eau, particulièrement calcaires ou gréseuses, présentent de nombreuses crevasses et des grottes, qui offrent des gîtes diurnes pour beaucoup d'espèces de chauves-souris (Goodman *et al.* 2005). Les grandes étendues rocheuses sont communes dans les parties sèches de l'Ouest mais rares à l'Est de Madagascar.

A l'exception de trois espèces frugivores, les chauves-souris de Madagascar se nourrissent d'invertébrés, principalement d'une grande variété d'insectes nocturnes. Les chauves-souris insectivores malgaches sont réparties en sept familles : Hipposideridae avec quatre espèces ; Emballonuridae avec quatre espèces ; Nycteridae avec une espèce ; Myzopodidae, une famille endémique de l'île, avec deux espèces ; Molossidae avec huit espèces ; Vespertilionidae avec 11 espèces et Miniopteridae avec 11 espèces (Goodman 2011 ; Goodman *et al.* 2011). Les trois espèces frugivores, *Pteropus rufus*, *Eidolon dupreanum* et *Rousettus madagascariensis*, font partie de la famille des Pteropodidae. Les chauves-souris malgaches sont de taille variable. L'espèce la plus petite est *Emballonura tiavato* (Emballonuridae) avec ses 3,3 g et la plus grande est *Pteropus rufus* dont le poids peut atteindre 750 g.

Quelques chauves-souris insectivores s'abritent à la fois dans les habitats naturels (grottes/anfractuosités : *Mormopterus*, trous d'arbre : *Mops*, en dessous des branches d'arbre : *Hipposideros*) et les constructions humaines (*Mops*, *Mormopterus*, *Chaerephon*). Cependant il y a celles qui n'utilisent qu'une seule forme d'abris. C'est par exemple le cas de *Myzopoda aurita* qui s'accroche à l'aide de ses disques adhésifs sur l'intérieur de feuilles enroulées de *Ravenala madagascariensis* (Strelitziaceae). Les trois chauves-souris frugivores utilisent des gîtes éloignés des perturbations humaines. *P. rufus* s'accroche sur les branches d'arbre ensoleillées. *E.*

dupreanum s'abrite dans des zones ombragées comme les anfractuosités des rochers ou sous les feuilles denses des palmiers. *R. madagascariensis* vit dans les grottes obscures et souvent humides. L'utilisation de gîtes obscurs par *R. madagascariensis* est liée à sa capacité d'écholocation que ne possèdent pas les deux autres espèces.

Pour la plupart des Pteropodidae frugivores, l'olfaction et la vue jouent un rôle significatif dans la recherche de nourriture (Acharya *et al.* 1998 ; Luft *et al.* 2003) mais elles utilisent aussi la vision pour l'orientation et possèdent dans l'œil une membrane appelée tapetum lucidum qui augmente la sensibilité dans un environnement à faible luminosité (Ollivier *et al.* 2004).

1.2. ORIGINE ET DISPERSION DES CHAUVES-SOURIS FRUGIVORES MALGACHES ET AFRICAINES

Il semblerait que l'arrivée des chauves-souris frugivores d'Afrique ait été un processus complexe impliquant au moins trois événements indépendants de colonisation. Un des événements a probablement eu lieu au miocène par l'intermédiaire des corridors de forêts humides tropicales qui avaient relié l'Afrique et l'Asie. Les Pteropodidae sont probablement d'origine du Sud-est d'Asie-Mélanésie et au moins trois événements de colonisation de l'Afrique par cette famille auraient eu lieu (Juste *et al.* 1999). L'un est associé à l'arrivée d'*Eidolon*, un autre à l'apparition de *Rousettus* africain et le dernier à la branche endémique africaine incluant *Stenonycteris* (Giannini & Simmons 2003).

L'arrivée de *Rousettus* sur le continent d'Afrique aurait été un peu plus tardif possiblement par un déplacement progressif vers l'est en partant de l'Asie. Ces événements sont associés aux échanges faunistiques incluant les chiroptères à travers les corridors couverts de forêts au cours de la séparation de l'Afrique et de l'Asie il y a 19 millions d'années (Thomas 1983 ; Cox & Moore 1993). La surélévation des montagnes en Turquie et au Moyen-Orient, ainsi que l'aridité accrue de ces zones et l'ouverture de la mer rouge, ont mené à l'isolement des forêts de l'Afrique et de celle de l'indo-Australie avec leurs faunes associées. Cependant, Kirsch *et al.* (1995) ont constaté un nouvel événement de colonisation plus récente de *Rousettus* en Afrique. Le genre *Rousettus* inclut les espèces africaines, indiennes, et Australo-asiatique (Juste *et al.* 1999). La diversité élevée de ce genre couplée à la découverte récente des fossiles de chauves-souris frugivores dans des sédiments (Ducrocq *et al.* 1993) appuient l'hypothèse d'une origine Australo-asiatique de la famille.

Les grands renards volants, *Pteropus*, n'ont pas été trouvés en terre africaine continentale mais sont présents et représentés par quelques espèces endémiques (Giannini & Simmons 2003) des îles de l'ouest de l'océan Indien (exemple, *P. aldabrensis* à Aldabra ; *P. rufus* à Madagascar et *P. seychellensis* aux Seychelles et Comores).

La colonisation par *Pteropus* des Îles de l'ouest de l'océan Indien est probablement le résultat lui aussi de trois événements de colonisation : le premier vers l'extrême ouest de leur répartition géographique (Îles de Comores et de Pemba) ; le deuxième vers l'Île de Rodrigues ; et le dernier vers les Îles restantes notamment Maurice, La Réunion, Madagascar, les Seychelles et Maldives. Les deux derniers événements se seraient produits récemment et rapidement (O'Brien *et al.* 2009).

L'origine de Pteropodidae est supposée remonter vers la moitié ou la fin de l'Oligocène (23,9 million d'année), période de laquelle, l'ancêtre commun le plus récent des chauves-souris frugivores est connu (Kirsch *et al.* 1995 ; Hollar & Springer 1997 ; Colgan & da Costa 2002). Il existe neuf espèces de *Rousettus* dans l'ancien monde, qui se trouvent en Afrique, Madagascar, au Moyen Orient, la région Indo-malaysie et le Pacifique est (Giannini & Simmons 2003). Ces espèces sont : *R. aegyptiacus* E. Geoffroy, 1810 ; *R. amplexicaudatus* E. Geoffroy, 1810 ; *R. bidens* Jentink, 1879 ; *R. celebensis* K. Andersen, 1907 ; *R. lanosus* Thomas, 1906 ; *R. leschenaultii* Desmarest, 1820 ; *R. madagascariensis* G. Grandidier, 1928 ; *R. obliviosus* Kock, 1978 et *R. spinalatus* Bergmans & Hill, 1980.

Ce genre ainsi que *Stenonycteris* utilisent l'écholocation pour s'orienter (Giannini & Simmons 2003), une écholocation basée sur des ultrasons produits par le claquement de la langue (Mohres & Kulzer 1956 ; Roberts 1975). L'écholocation laryngale a probablement évolué dans une période située il y a 65 millions d'années. D'après les études phylogénétiques moléculaires, l'écholocation aurait évolué quatre fois chez les chauves souris actuelles (Teeling 2009). Le genre *Rousettus* utilise la forme la plus évoluée d'écholocation (le claquement de la langue) qui ne peut pas être considérée comme un aspect transitoire de l'écholocation laryngale vers sa disparition car les claquements vraisemblablement ont secondairement évolué chez *Rousettus* et n'expriment pas un aspect ancestral (Jones & Teeling 2006). Les membres du genre *Rousettus* émettent sur une large bande de fréquence (12-70 kHz ; Jones & Teeling 2006). Le claquement est reproduit en paire (un claquement par lèvre) en élevant la langue du fond de la bouche. La cochlée chez les Pteropodidae peut être considérée comme une relique de l'utilisation de l'écholocation (Springer *et al.* 2001). L'écholocation permet à *Rousettus* de s'abriter dans les

grottes et par conséquent de se disperser dans les habitats secs et saisonnièrement frais, inaccessibles aux autres chauves-souris frugivores qui s'abritent dans les arbres. En effet, *Rousettus* est la seule chauve-souris frugivore trouvée entre le Pakistan et la Turquie (Bergmans 1994). La dépendance lâche à l'égard des forêts aurait permis à *Rousettus* de se disperser même après la disparition des couloirs de forêts entre les deux régions.

Rousettus obliviosus a été trouvée dans trois des quatre îles de l'Archipel des Comores (Grande Comore, Mohéli et Anjouan) îles voisines de Madagascar, tandis que *R. madagascariensis* est endémique à Madagascar (O'Brien 2011). Ces deux espèces ont des caractères morphologiques similaires, notamment leur taille et leur dentition, et sont différentes de celle de l'espèce de l'Afrique de l'est : *R. aegyptiacus* (Kwiecinski & Griffiths 1999), une forme présente aux îles de Pemba, Zanzibar et Mafia (O'Brien 2011). Selon Kock (1978), *R. obliviosus* a été considérée comme une sous-espèce de *R. madagascariensis*, mais des recherches récentes de Goodman *et al.* (2010) montrent que *R. madagascariensis* et *R. obliviosus* pourraient être considérées comme spécifiquement distinctes car ces deux taxa ne partagent aucun haplotype commun.

1.3. PRESENTATION DE *Rousettus madagascariensis* G. Grandidier, 1928

Rousettus madagascariensis, connue sous le nom de Rousette de Madagascar (en français), Madagascar Rousette (en anglais), *nanavirovana* ou *matavikely* ou *andrehy* (en malgache, dialecte de l'Est), ou *bemainty* (en malgache, dialecte du Nord-ouest de Madagascar) est la plus petite des chauves-souris frugivores de Madagascar. La longueur moyenne de son corps est de 124 mm, l'avant-bras est d'environ 80 mm et elle pèse entre 55 et 80 g (MacKinnon *et al.* 2003, Figure 1.1). Le pelage de la tête et du cou est plus court et plus fin que celui de *Pteropus rufus* et d'*Eidolon dupreanum*. Elle est de couleur brune fauve, les oreilles sont proportionnellement petites et le patagium est entièrement sombre et elle ne semble pas avoir de vision en couleur (Müller *et al.* 2007). Elle est endémique de Madagascar et des îles voisines de Nosy Be, Nosy Komba et Sainte-Marie. L'espèce est rencontrée dans plusieurs parties de Madagascar à des altitudes allant du niveau de la mer jusqu'à 1000 m, mais elle est absente de l'extrême Sud-ouest et des zones montagneuses du centre de Madagascar (MacKinnon *et al.* 2003, Figure 1.1).

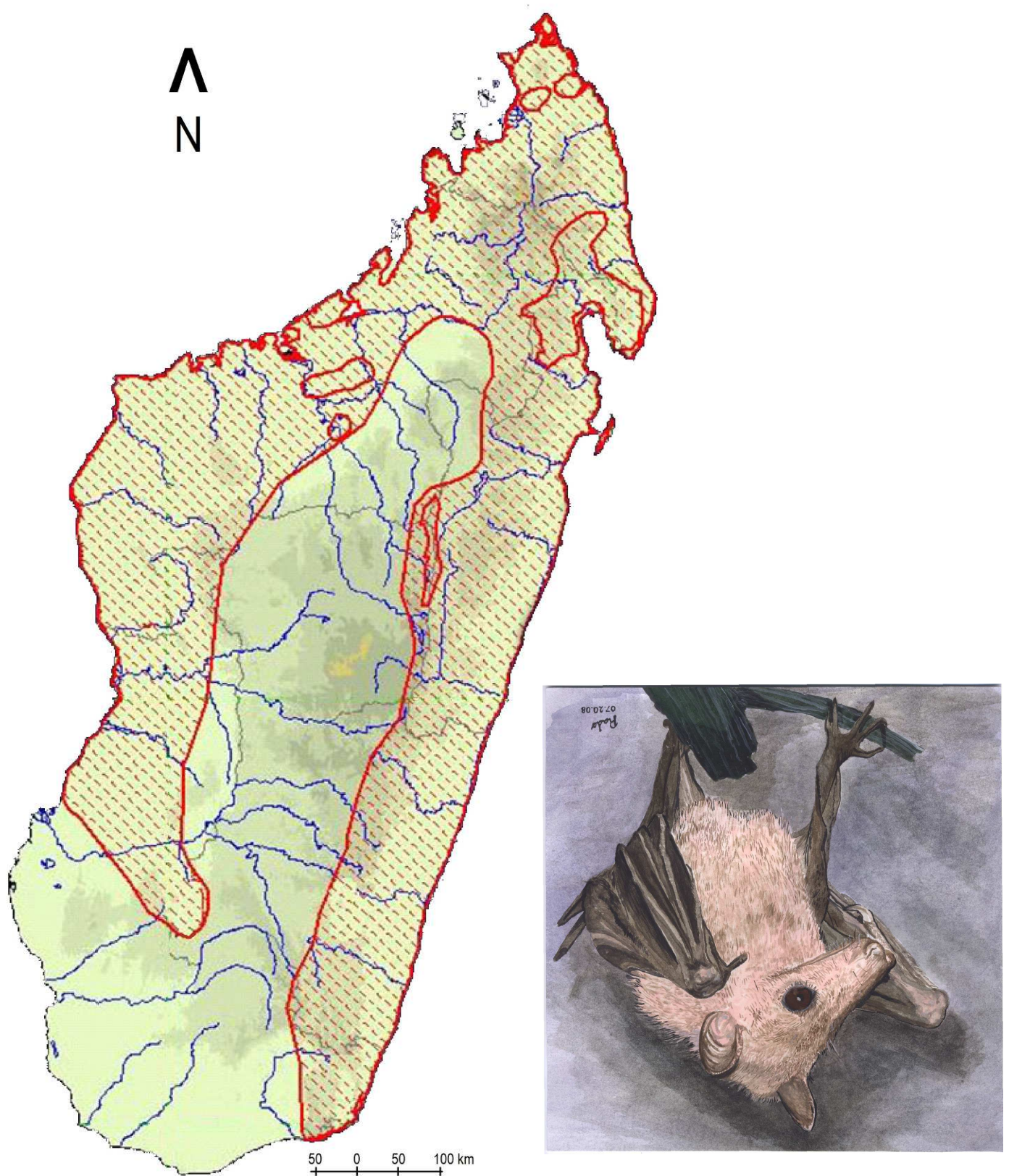


Figure 1. 1 : Aire de distribution (à gauche, source : IUCN/SSC Global Mammal Assessment 2005) delimitée en rouge et illustration (par Andrianaivoarivelo à droite) de *Rousettus madagascariensis*.

Rousettus madagascariensis se nourrit en majorité de fruits d'espèces autochtones ou introduites qui poussent en dehors ou dans des écosystèmes forestiers naturels (Andriafidison *et al.* 2006 ; Andrianaivoarivelo *et al.* 2011). Dans ses sites d'alimentation, aucun animal prédateur n'est encore connu, mais la chouette Effraie (*Tyto alba*) constitue un de ses prédateurs qui la capture au niveau des entrées de leurs gîtes (Goodman & Griffiths 2006). Elle semble ainsi être bien adaptée aux changements anthropiques de l'environnement et contribue à la dispersion des graines de plusieurs fruits.

1.4. CONNAISSANCES ACTUELLES SUR L'HABITAT ET L'ÉCOLOGIE DE *Rousettus madagascariensis*

Rousettus madagascariensis s'abrite pendant le jour dans des grottes sombres (MacKinnon *et al.* 2003). Peu de colonies sont connues, même dans les secteurs avec des grottes souterraines étendues (MacKinnon *et al.* 2003 ; Kofoky *et al.* 2007). Cela donne l'impression que *R. madagascariensis* cherche des conditions ambiantes bien définies pour ses gîtes diurnes. Actuellement, les seules chauves-souris frugivores connues pour être cavernicoles en Afrique sont les genres *Rousettus* et *Lissonycteris* (Juste *et al.* 1999). Cette préférence pour les grottes sombres est rendue possible grâce à sa capacité d'utiliser l'écholocation (Novick 1958). Aucune autre forme de gîte (ex. trous d'arbres, constructions humaines, etc...) en dehors des grottes humides n'a été encore observée occupée par *R. madagascariensis*. Notons que d'autres espèces de *Rousettus* vivent dans des cavernes, des bâtiments abandonnés, des temples et des tunnels inutilisés (Chandrashekar & Marimuthu 1994 ; Bates & Harrison 1997). D'ailleurs, cette espèce est capturée ou observée dans un certain nombre d'emplacements où on n'a jamais trouvé de gîte (Andriafidison *et al.* 2006 ; Rakotoarivelo & Randrianandriananina 2007 ; Rakotonandrasana & Goodman 2007).

La colonie est généralement formée de l'agrégation de mille ou plus individus (MacKinnon *et al.* 2003 ; Rakotoarivelo & Randrianandriananina 2007), mais des colonies avec quelques centaines d'individus sont également connues (Figure 1.2, Jenkins *et al.* 2007 ; Kofoky *et al.* 2007 ; Andrianaivoarivelo *et al.* 2011). A l'ouest, elle peut être localement abondante et est souvent l'espèce de chauves-souris la plus fréquemment capturée dans les filets (Kofoky *et al.* 2007 ; Rakotoarivelo & Randrianandriananina 2007).



Figure 1. 2 : Colonie de *Rousettus madagascariensis* dans une grotte à l'est de Madagascar (Cliché par Radosoa A. R. Andrianaivoarivelo).

Largement distribuée, elle semble être associée à plusieurs types de formation végétale, à savoir les forêts naturelles humides ou sèches ou de galerie (MacKinnon *et al.* 2003 ; Andrianaivoarivelo *et al.* 2011), les plantations d'*Eucalyptus* (Randrianandriananina *et al.* 2006), les terrains agricoles (Goodman 1999 ; Kofoky *et al.* 2007 ; Rakotoarivelo & Randrianandriananina 2007 ; Andrianaivoarivelo *et al.* 2011), elle est aussi trouvée dans les villages (Andriafidison *et al.* 2006).

Rousettus madagascariensis joue potentiellement un rôle de disséminateur de graines et pollinisateur de fleurs (Andrianaivoarivelo *et al.* 2011). A l'instar des deux autres grandes espèces de chauves-souris frugivores malgaches (*Pteropus* et *Eidolon*), les recherches sur le régime alimentaire et l'écologie du *R. madagascariensis* commencent à gagner de l'ampleur. Dans certains sites, l'animal est vu se nourrissant de fruits commerciaux (Goodman 1999 ; Hutcheon 2003 ; Andrianaivoarivelo *et al.* 2007 ; Jenkins & Racey 2008), mais les espèces autochtones font aussi partie de son régime alimentaire. Razafindrakoto (2006) et

Andrianaivoarivelo *et al.* (2011) rapportent que l'espèce mange les fruits des arbres forestiers autochtones endémiques ou non-endémiques. La bananeraie est un champs de prédilection de cette espèce, le nectar semble faire partie de ses préférences alimentaires (Andrianaivoarivelo *et al.* 2011) et elle fréquente aussi les fleurs de Kapokier ou *Ceiba pentandra* (Malvaceae) (Andriafidison *et al.* 2006).

1.5. ENJEUX DE CONSERVATION DES CHAUVES-SOURIS A MADAGASCAR

Considérée comme gibier selon les statuts malgaches (Durbin 2007), *Rousettus madagascariensis* est protégée uniquement quand elle se trouve dans une aire protégée. Cependant, très peu de gîtes sont connus dans les aires protégées. A l'Ouest de Madagascar, on l'a trouvé dans six aires protégées : Parc National d'Ankarana, Réserve Spéciale d'Analamerana, Parc National d'Ankarafantsika, Parc National de Namoroka, Parc National du Tsingy de Bemaraha et Parc National d'Isalo (Goodman *et al.* 2005 ; Cardiff *et al.* 2009). Jusqu'en 2008, 41 gîtes de *R. madagascariensis* ont été recensés à Madagascar (Annexe 1). Suite à la déforestation et à la chasse illégale, au moins neuf d'entre eux ont été abandonnés entre 1997 et 2007 et des suivis réguliers sont nécessaires pour suivre l'évolution de la population dans ces gîtes.

Le décret 2006-400 (juin 2006) du gouvernement Malgache portant classement des espèces de la faune sauvage assigne une mise-à-jour de la protection de la vie sauvage dont les chauves-souris. En effet, les chauves-souris sont classées dans la catégorie III et sont soumises aux contrôles des saisons de chasse (Rakotoarivelo *et al.* 2011). Pour les trois espèces chauves-souris frugivores, la période de chasse se situe entre le 1^{er} février et le 1^{er} mai, pendant laquelle, des permis de chasse commerciale sont délivrés.

Les menaces directes sur les individus de *R. madagascariensis* sont la chasse pendant le jour dans leur grotte ou la nuit sur leurs sites d'alimentation (ex. les arbres fruitiers du verger *Litchi chinensis* : Golden 2009 ; *Dymocarpus longan* : Andrianaivoarivelo 2007) dans presque tous les sites non protégés (Rakotonandrasana & Goodman 2007 ; Jenkins & Racey 2008). Mais les sites sont quelquefois considérés sacrés et la colonie est épargnée par la chasse (Rakotoarivelo & Randrianandriananina 2007).

La chasse dans les dortoirs s'avère la plus destructive par rapport à celle sur les sites d'alimentation, car elle affecte la taille de la population et pourrait entraîner l'abandon du gîte. La méthode principale de capture de *Rousettus* voit la participation de moins de dix personnes.

Les chasseurs lancent leurs bâtons en bois vers le plafond de la grotte où les chauves-souris s'abritent, les individus se blessent et tombent (Rakotonandrasana & Goodman 2007). Une autre variété de méthode consiste à utiliser des moyens locaux. Par exemple, au Sud-Ouest de Madagascar, les chasseurs utilisent la plante « *farehitsy* » (*Uncarina grandidieri*, Pedaliaceae) ayant des fruits hérissés d'épines à crochets ressemblant à des hameçons. Un paquet de ces fruits est attaché à de longue tige, et lancé sur les colonies qui s'abritent sous le toit des grottes. Les épines s'accrochent fermement aux ailes et les chauves-souris sont alors tirées au sol et tuées (Goodman 2011).

Pendant les mois de chasse, la grotte peut être visitée une fois par semaine, par conséquent entre 360 à 480 chauves-souris pourraient être prises localement chaque année (Rakotonandrasana & Goodman 2007). A Ankarana, des individus de *R. madagascariensis* étaient chassés en plus grande proportion que d'autres espèces (*Eidolon dupreanum* et *Hipposideros commersoni* : Hipposideridae) (Cardiff *et al.* 2009). Ce type d'exploitation est le plus souvent pour la consommation locale et existe dans plusieurs localités à Madagascar. Les paysans de la région d'Anosy rapportent que les chauves-souris frugivores, notamment *Pteropus rufus* ont été capturées et tuées pour protéger les fruits du verger (Rahaingodrahety 2007). Les chauves-souris sont vendues discrètement dans les villages à proximité de la Réserve Spéciale privée de Berenty et génèrent \$115 à \$190 (US) de recettes par chasseur et par an (Rahaingodrahety 2007).

Les grandes chauves-souris (*P. rufus* et *E. dupreanum*) seraient les seules espèces vendues aux restaurants (Jenkins & Racey 2008). La saisonnalité de la chasse des chauves-souris semble être dépendante de la disponibilité des chauves-souris dans leur site d'alimentation mais pas de la saison légale de la chasse. La variation locale de l'importance de la chasse et de la population des chauves-souris ne permet pas d'estimer l'effectif approximatif des chauves-souris capturées sur l'ensemble de l'île. L'étendue de la destruction et la dégradation de la forêt naturelle affectant la survie de *R. madagascariensis* est mal déterminée. Cependant, Goodman *et al.* (2005) supposent que l'espèce ne dépend pas des forêts naturelles intactes pour survivre. Mais il est encore trop tôt pour confirmer cette hypothèse, les données sur le régime alimentaire annuel étant encore insuffisantes et la présence de la forêt intacte pourrait être importante car les gîtes se trouvent à une distance de 0 à 20 km.

Les gîtes dans les aires protégées existantes doivent susciter une attention particulière du personnel des parcs pour éradiquer la chasse illicite. Les autres gîtes doivent être conservés et

ceci pourrait être réalisé par leur inclusion dans les nouvelles aires protégées avec la coopération des communautés locales.

Les chauves-souris sont méconnues du fait qu'elles ne font pas partie des sujets abordés dans le cadre de l'éducation et la formation environnementale à Madagascar. Peu de professionnels de l'environnement ont accès à des informations (diversité, écologie, conservation) les concernant. Cependant, la large diffusion de l'ouvrage « Les chauves-souris de Madagascar » (Goodman 2011) pourrait améliorer la connaissance sur les chauves-souris au niveau scolaire.

Quelques organisations intègrent les chauves-souris dans leur plan de conservation. Pourtant, ces animaux ont un rôle prépondérant dans la conservation de la biodiversité forestière et la surexploitation des chauves-souris pour la viande d'animaux sauvages met en péril ce rôle biologique. Il devient donc important d'inclure ces animaux dans les plans de gestion et les projets de conservation.

Sur d'autres îles de l'Océan Indien occidental, un certain nombre de techniques utilisées au niveau scolaire et communautaire (utilisation de kit scolaire/ programme d'éducation au niveau scolaire, ou gestion durable de la chasse au niveau communautaire) pour transmettre les messages appropriés aux communautés locales en vue de protéger les chauves-souris (Trehwella *et al.* 2005) ont été testées. A Madagascar, des projets éducatifs sont organisés au profit des enfants scolarisés en milieu rural où des sites abritant des chauves-souris ont été répertoriés (O'Connor *et al.* 2006).

1.6. OBJECTIFS DE L'ETUDE

Madagascar représente un des enjeux de conservation les plus élevés du monde, en raison de son fort niveau d'endémisme et de ses écosystèmes uniques qui sont menacés par le rythme galopant de la déforestation. L'existence des aires protégées créées semble ne pas résoudre le problème de déforestation (Ingram & Dawson 2007).

Pour remédier à la déforestation, la dissémination de graines entre en jeu et c'est un des mécanismes essentiels de la régénération forestière. Plusieurs moyens y concourent, mais le transport actif par un animal (zoochorie) prédomine dans les disséminations des graines forestières tropicales (ex. Van der Pijl 1969 ; Gautier-Hion *et al.* 1985), ce qui est également le cas à Madagascar. Le principe général du fonctionnement de la zoochorie est que la graine est associée, d'une part, à des annexes contenant des éléments nutritifs (pulpe, arille) recherchés par

les animaux frugivores qui s'en nourrissent et, d'autre part, à des structures formant un signal attractif (couleurs, contrastes de brillance, mouvements, odeurs, etc.) sur lesquelles les animaux frugivores se repèrent pour trouver les fruits mûrs. Sur le site de Sainte Luce, au Sud-est de Madagascar, au moins 34 espèces d'essence forestière sont des plantes zoochores (Bollen *et al.* 2004) et au moins 110 espèces de plante dont 55% sont endémiques sont identifiées dans le régime alimentaire de *Pteropus rufus* (Bollen & Van Elsacker 2002 ; Long 2002 ; Long & Racey 2007).

Rousettus madagascariensis est considérée potentiellement comme une espèce clef de voûte de la régénération des forêts naturelles malgaches (Andrianaivoarivelo *et al.* 2011). Sa large distribution et sa capacité de vol sur de distances relativement longues, lui permettraient d'assurer les échanges génétiques entre plantes appartenant à des fragments de forêts distants. Andrianaivoarivelo *et al.* (2011) ont trouvé que l'animal peut effectuer un vol droit de 8 km par nuit entre son dortoir diurne et son site d'alimentation. Cette capacité de longue distance de vol pourrait affecter son mode de reproduction (échange génétique entre colonies distantes), un constat qui est en partie confirmé par les résultats des études génétiques réalisées par Goodman *et al.* (2010). Ils ont constaté de faibles différenciations génétiques dues aux flux génétiques entre des colonies de *R. madagascariensis* géographiquement éloignées. Cette espèce serait alors capable de se déplacer entre des sites forestiers isolés les uns des autres en assurant en même temps des échanges génétiques des plantes qu'elle consomme en transférant graines et pollens sur sa route. En dépit de ce constat, elle est aussi considérée comme nuisible du fait de son aptitude à se nourrir de plantes de valeur économique.

Pour améliorer notre compréhension du rôle joué par *R. madagascariensis* dans les écosystèmes malgaches, et notamment préciser les relations entre populations et caractériser leurs préférences alimentaires, une étude morphométrique a été effectuée parallèlement à une étude génétique dans quelques zones de distribution de l'espèce pour étudier les ressemblances entre les colonies. Puis, nous avons également étudié dans des situations contrastées, la préférence des chauves-souris vis-à-vis des plantes autochtones ou celles introduites à valeur économique. Cette dernière étude nous permet de mieux connaître pour quelle catégorie de plante *R. madagascariensis* a une préférence marquée. Une meilleure connaissance de l'écologie alimentaire et du fonctionnement des populations de *R. madagascariensis* va permettre de mieux appréhender à la fois son rôle potentiel de clé de voûte ou de nuisible potentiel et de mieux assurer sa protection.

La thèse s'organise selon le plan suivant. Cette introduction générale en constitue le premier chapitre. Le plan comprend deux parties développées sous forme de cinq articles. La première partie sur l'écologie de l'espèce comprend trois chapitres qui décrivent l'utilisation de l'habitat (Chapitre 2), les comportements et choix alimentaires de l'espèce (Chapitre 3), ainsi que les variations de préférence alimentaire et d'utilisation de l'habitat selon l'âge et le sexe de l'animal (Chapitre 4). D'abord, nous avons étudié l'utilisation des différents habitats par *Rousettus* (Chapitre 2). Ensuite, à l'aide des analyses comparatives de son choix alimentaire, nous avons cherché à savoir si elle a tendance à préférer les plantes exotiques et si la présence de ces espèces de plantes pouvait modifier leur régime alimentaire originellement constitué par des plantes autochtones (Chapitres 3 & 4).

Le fait de manger des fruits et de transporter leurs graines ne suffit pas pour expliquer l'aptitude de *R. madagascariensis* à jouer un rôle dans la régénération naturelle des forêts. La connaissance de ses mouvements à plus grande échelle est aussi utile. Des études de la diversité génétique et morphologique aussi bien que de la reproduction ont été menées et sont rapportées dans la deuxième partie, découpée en deux chapitres : l'analyse de la structure génétique de *R. madagascariensis* (Chapitre 5) et l'étude de la diversité phénotypique et de la phénologie de la reproduction dans 14 districts regroupés en cinq sites à Madagascar (Chapitre 6). Cette première partie (génétique de population) nous a permis d'évaluer la possibilité de regrouper ou non les groupes d'échantillons en une seule population (en cas d'absence de différences génétiques). Cette analyse nous a permis aussi de comprendre si la variabilité génétique d'un groupe d'individus de *Rousettus* pouvait être influencée par les barrières physiques naturelles notamment la distance entre sites. Le dernier chapitre rapporte des analyses morphométriques, de la sex-ratio et de la phénologie la reproduction.

Les méthodes d'étude sont appuyées par des captures sur terrain, des expériences sur la préférence alimentaire de l'espèce, l'utilisation de la radio télémétrie, l'utilisation de marqueurs microsatellites (ADN nucléaire), des études en laboratoire et des analyses statistiques de données.

1.7. REFERENCES

Acharya K. K., Roy A. & Krishna A. 1998. Relative role of olfactory cues and certain non-olfactory factors in foraging of fruit-eating bats. *Behavioral Processes* 44 : 59–64.

- Andriafidison D., Andrianaivoarivelo R. A. & Jenkins R. K. B. 2006. Records of tree roosting bats from western Madagascar. *African Bat Conservation News* 8 : 5–6.
- Andrianaivoarivelo R. A., Ramilijaona O. R. & Andriafidison D. 2007. *Rousettus madagascariensis* Grandidier 1929 feeding on *Dimnocarpus longan* in Madagascar. *African Bat Conservation News* 11 : 3–4.
- Andrianaivoarivelo R. A., Ramilijaona O. R., Racey P. A., Razafindrakoto N. & Jenkins R. K. B. 2011. Feeding ecology, habitat use and reproduction of *Rousettus madagascariensis* Grandidier, 1928 (Chiroptera : Pteropodidae) in eastern Madagascar. *Mammalia* 75(1) : 53–68.
- Bates P. J. J. & Harrison D. L. 1997. *Bats of the Indian subcontinent*. Harrison Zoological Museum Publications, United Kingdom, 258 pp.
- Bergmans W. 1994. Taxonomy and biogeography of African fruit bats (Mammalia, Megachiroptera). 4. The genus *Rousettus* Gray, 1921. *Beaufortia* 44 : 79–125.
- Bollen A. & Van Elsacker L. 2002. Feeding ecology of *Pteropus rufus* (Pteropodidae) in the littoral forest of Sainte Luce, SE Madagascar. *Acta Chiropterologica* 4 : 33–47.
- Bollen A., Van Elsacker L. & Ganzhorn J. U. 2004. Tree dispersal strategies in the littoral forest of Sainte Luce (SE–Madagascar). *Oecologia* 139 : 604–616.
- Cardiff S. G., Ratrimomanarivo F. H., Rembert G. & Goodman S. M. 2009. Hunting, disturbance and roost persistence of bats in caves at Ankarana, northern Madagascar. *African Journal of Ecology* 47 : 640–649.
- Chandrashekar M. K. & Marimuthu G. 1994. A huge colony of the dog bat, *Rousettus leschenaulti*, in South India. *Bat Research News* 35(4) : 82.
- Colgan D. J. & da Costa P. 2002. Megachiropteran evolution studied with 12S rDNA and c-mos DNA sequences. *Journal of Mammalian Evolution* 9(1/2) : 3–22.
- Cox C. B Moore P. D. 1993. *Biogeography; an Evolutionary and Ecological Approach*, 5th ed. Blackwell Science, Oxford, 326 pp.
- Ducrocq S., Jaeger J. & Sigé B. 1993. Un mégachiroptère dans l'Eocène supérieur de Thaïlande incidence dans la discussion phylogénétique du group. *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie Monatshefte* 9 : 561–575.
- Durbin J. 2007. New legislation for the protection of Malagasy species. *Lemur News* 11 : 4–6.
- Gautier-Hion A., Duplantier J.-M., Quris R., Feer F., Sourd C., Decoux J. P., Dubost G., Emmons L., Erard C., Heckestweiller P., Mounrazi A., Roussillon C. & Thiollay J.-M. 1985.

- Fruits characters as a basis of fruit choice and seed dispersal in a tropical forest vertebrate community. *Oecologia* 65 : 324–337.
- Giannini N. P. & Simmons N. B. 2003. A phylogeny of megachiropteran bats (Mammalia : Chiroptera : Pteropodidae) based on direct optimization analysis of one nuclear and four mitochondrial genes. *Cladistics* 19 : 496–511.
- Golden C. D. 2009. Bushmeat hunting and use in the Makira forest, North-eastern Madagascar : A conservation and livelihood issue. *Oryx*, 43 : 386–392.
- Goodman S. M. 1999. Notes on the bats of the Réserve Naturelle Intégrale d'Andohahela and surrounding areas of southeastern Madagascar. *Fieldiana : Zoology*, new series 94 : 251–257.
- Goodman S. M. 2011. *Les chauves-souris de Madagascar : Guide de leur distribution, biologie et identification*. Association Vahatra, Antananarivo, 129 pp.
- Goodman S. M. Andriafidison D. Andrianaivoarivelo R. A., Cardiff S. G. Ifticene R., Jenkins R. K. B., Kofoky A. F., Mbohoahy T., Rakotondravony D., Ranivo J., Ratrimomanarivo F. H., Razafimanahaka H. J, Razakarivony V. & Racey P. A. 2005. The distribution and conservation of bats in the dry regions of Madagascar. *Animal Conservation* 8 : 153–165.
- Goodman S. M. & Griffiths O. 2006. A case of exceptionally high predation levels of *Rousettus madagascariensis* by *Tyto alba* (Aves : Tytonidae) in western Madagascar. *Acta Chiropterologica* 8 : 553–556.
- Goodman S. M., Chan L. M., Nowak M. D & Yoder A. D. 2010. Phylogeny and biogeography of western Indian Ocean *Rousettus* (Chiroptera : Pteropodidae). *Journal of Mammalogy*, 91(3) : 593–606.
- Goodman S. M., Ramasindrazana B., Maminirina C. P., Schoeman M. C. & Appleton B. 2011. Morphological, bioacoustical, and genetic variation in *Miniopterus* bats from eastern Madagascar, with the description of a new species. *Zootaxa* 2880 : 1–19.
- Hollar L. J. & Springer M. S. 1997. Old world fruitbat phylogeny : Evidence for convergent evolution and an endemic African clade. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 94 : 5716–5721.
- Hutcheon J. M. 2003. Frugivory by Malagasy bats. In : Goodman S. M. & Benstead J. P. (Eds.), *The natural history of Madagascar*. University of Chicago Press, Chicago, 1205–1207 pp.
- Ingram J. C. & Dawson T. P. 2005. Inter-annual analysis of deforestation hotspots in Madagascar from high temporal resolution satellite observations. *International Journal of Remote Sensing* 26(7) : 1447–1461.

- Jenkins R. K. B., Kofoky A. F., Russ J. M., Andriafidison A., Siemers B. M., Randrianandrianina F. H., Mbohoahy T., Rahaingodrahety V. N. & Racey P. A. 2007. Ecology of bats in the southern Anosy Region. In : Ganzhorn J. U., Goodman S. M. & Vincelette M. (Eds.), *Biodiversity, ecology and conservation of littoral ecosystems in southeastern Madagascar, Tolagnaro (Fort-Dauphin)*. Smithsonian Institution, Washington, DC, series no. 11, 209-222.
- Jenkins R. K. B. & Racey P. A. 2008. Bats as bushmeat in Madagascar. *Madagascar Conservation & Development* 3(1) : 22–30.
- Jones G. & Teeling E.C. 2006. The evolution of echolocation in bats. *Trends in Ecology and Evolution* 21(3) : 149–156.
- Juste J. B., Álvarez Y., Tabares E., Garrido-Pertierra A., Ibáñez C. & Bautista J. M. 1999. Phylogeography of African fruitbats (Megachiroptera). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 13 : 596–604.
- Kirsch J. A. W., Flannery T. F., Springer M. S. & Lapointe F. J. 1995. Phylogeny of the Pteropodidae (Mammalia : Chiroptera) based on DNA hybridisation with evidence of bat monophyly. *Australian Journal of Zoology* 43 : 395–428.
- Kock D. 1978. A new fruit bat of the genus *Rousettus* Gray 1821, from the Comoro Islands, western Indian Ocean (Mammalia : Chiroptera). *Proceedings of the International Bat Research Conference* 4 : 205–216.
- Kofoky A., Andriafidison D., Ratrimomanarivo F., Razafimanahaka H. J., Rakotondravony D., Racey P. A. & Jenkins R. K. B. 2007. Habitat use, roost selection and conservation of bats in Tsingy de Bemaraha National Park. *Madagascar Biodiversity Conservation* 16 : 1039–1053.
- Kwiecinski G. G. & Griffiths T. A. 1999. *Rousettus egyptiacus*. *Mammalian Species* 611 : 1–9.
- Long E. 2002. The feeding ecology of *Pteropus rufus* in a remnant gallery forest surrounded by sisal plantations in South-east Madagascar. Unpublished Ph.D. thesis, University of Aberdeen. 1–217 pp.
- Long E. & Racey P. A. 2007 An exotic plantation crop as a keystone resource for an endemic megachiropteran, *Pteropus rufus*, in Madagascar. *Journal of Tropical Ecology* 23 : 397–407.
- Luft S., Curio E. & Tacud B. 2003. The use of olfaction in the foraging behaviour of the golden-mantled flying fox, *Pteropus pumilus* and the greater musky fruit bat, *Ptenochirus jagori* (Megachiroptera : Pteropodidae). *Naturwissenschaften* 90 : 84–87.

- MacKinnon J. L., Hawkins C. E. & Racey P. A. 2003. Pteropodidae, fruit bats. In : Goodman S. M. & Benstead J. P. (Eds.), *The natural history of Madagascar*. University of Chicago Press, Chicago and London. 1299–1302 pp.
- Mohres F. P. & Kulzer E. 1956. Über die Orientierungslaute der Flughunden (Chiroptera–Pteropodidae). *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* 38 : 1–29.
- Müller B., Goodman S. M. & Peichl L. 2007. Cone photoreceptor diversity in the retinas of fruit bats (Megachiroptera). *Brain Behavioral and Evolution* 70 : 90–104.
- Novick A. 1958. Orientation in Palearctic bats. I. Microchiroptera. *Journal of Experimental Zoology* 138 : 81–154.
- O'Brien J., Mariani, C., Olson L., Russell A. L., Say L., Yoder A. D. & Hayden T. J. 2009. Multiple colonisations of the western Indian Ocean by *Pteropus* fruit bats (Megachiroptera : Pteropodidae) : The furthest islands were colonised first. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 51 : 294–303.
- O'Brien J. 2011. Bats of the western Indian Ocean Islands. *Animals* 1 : 259–290.
- O'Connor T., Riger P. & Jenkins R. K. B. 2006. Promoting fruit bat conservation through education in Madagascar. *International Zoo Educators Journal* 42 : 26–33.
- Ollivier F. J., Samuelson D. A., Brooks D. E., Lewis P. A., Kallberg M. E. & Komáromy A. M. 2004. Comparative morphology of the tapetum lucidum (among selected species). *Veterinary Ophthalmology* 7 : 11–22.
- Rahaingodrahety V. H. 2007. Ecologie et conservation de *Pteropus rufus* dans la Région de l'Anosy (cas des Communes Rurales d'Amboasary Sud et de Mahatalaky). Unpublished. Mémoire Ingénieur, Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Département des Eaux et Forêt, Université d'Antananarivo.
- Rakotoarivelo A. & Randrianandrianina F. H. 2007. A chiropteran survey of the lac Kinkony–Mahavavy area in western Madagascar. *African Bat Conservation News* 12 : 2–5.
- Rakotoarivelo A. R., Razafimanahaka J. H., Rabesihanaka S., Jones J. P. G. & Jenkins R. K. B. 2011. Lois et règlements sur la faune sauvage à Madagascar : Progrès accomplis et besoins du futur. *Madagascar Conservation & Development*. 6(1) : 37–44.
- Rakotonandrasana E. N. & Goodman S. M. 2007. Bat inventories of the Madagascar offshore islands of Nosy Be, Nosy Komba and Ile Sainte-Marie. *African Bat Conservation News* 12 : 6–10.

- Randrianandriananina F. H., Andriafidison D., Kofoky A.F., Ratrimomanarivo F. H., Racey P. A. & Jenkins. R. K. B. 2006. Habitat use and conservation of bats in rainforest and adjacent human-modified habitats in eastern Madagascar. *Acta Chiropterologica* 8 : 429–437.
- Razafindrakoto N. 2006. Etude comparative du régime alimentaire de *Pteropus rufus* Tiedemann, 1808 et de *Rousettus madagascariensis* Grandidier, 1928 (Pteropodidae) dans le district de Moramanga. Mémoire de DEA, Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo.
- Roberts L. H. 1975. Confirmation of the echolocation pulse production mechanism of *Rousettus*. *Journal of Mammalogy* 56 : 218–220.
- Springer M. S., Teeling E. C., Madsen O., Stanhope M. J. & de Jong W. W. 2001. Integrated fossil and molecular data reconstruct bat echolocation. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 98 : 6241–6246.
- Teeling E. C. 2009. Hear, hear : The convergent evolution of echolocation in bats? *Trends in Ecology and Evolution* 24 : 351–354.
- Thomas D.W. 1983. The annual migrations of three species of West African fruit bats (Chiroptera : Pteropodidae). *Canadian Journal of Zoology* 61 : 2266–2272.
- Trehwella W. J., Rodriguez-Clark K. M., Corp N., Entwistle A., Garrett S. R. T., Granek E., Lengel K. L., Raboude M. J., Reason P. F. & Sewall B. J. 2005. Environmental education as a component of multidisciplinary conservation programs : Lessons from conservation initiatives for critically endangered fruit bats in the western Indian Ocean. *Conservation Biology* 19 : 75–85.
- Van der Pijl L. 1969. Evolutionary action of tropical animals on the reproduction of plants. *Biological Journal of the Linnean Society* 1 : 85–96.

CHAPITRE II : FEEDING ECOLOGY, HABITAT USE AND REPRODUCTION OF *Rousettus madagascariensis* G. GRANDIDIER, 1928 (CHIROPTERA : PTEROPODIDAE) IN EASTERN MADAGASCAR

Andrianaivoarivelo R. A., Ramilijaona O. R., Racey P. A., Razafindrakoto N. & Jenkins R. K. B.

Manuscript published in *Mammalia* 75 (2011) : 69–78

2.1. ABSTRACT

We studied the diet, habitat use and biology of *Rousettus madagascariensis*, a relatively small (55–77 g) fruit bat endemic to Madagascar, between July 2004 and May 2005. Faecal analysis revealed few seeds in the diet, suggesting that the bats feed either extensively on nectar, flowers and leaves or on fruits with seeds too large to ingest. However, bats were captured near fruiting *Ficus* sp. inside relatively intact forest and *Ficus* sp. seeds were found in the faeces during March and April. Defecated *Ficus rubra* seeds germinated significantly faster than seeds from ripe fruits under controlled conditions, but germination rates were similar. Radio tracking and observations of light-tagged individuals revealed that *R. madagascariensis* travelled a straight-line distance of at least 8 km between the roost and feeding locations, with round trip foraging routes of up to 27 km. Most juveniles were trapped between March and July and we infer that weaning of young started before 8 weeks of age. The features used to distinguish juveniles from adults were no longer evident in December and it appears therefore that *R. madagascariensis* reaches somatic maturity within a single year. Pregnancy, lactation and weaning in this species coincide with the austral summer when food availability is higher.

Keywords : diet; Madagascar; radio tracking; reproduction; *Rousettus*

Resumé

Nous avons étudié le régime, l'utilisation d'habitat et la biologie de *Rousettus madagascariensis*, une espèce relativement petite et endémique (55–77 g) à Madagascar entre juillet 2004 et mai 2005. L'analyse fécale a révélé peu de graines dans son régime, ce qui suppose qu'elle se nourrit abondamment de nectar, de fleurs, de feuilles ou de fruits en drupe dont les graines sont trop volumineuses pour être mangées. Pourtant, les chauves-souris ont été capturées près d'un Figuier (*Ficus* sp.) à fruits à l'intérieur d'une forêt relativement intacte et par conséquent les graines des Figueiers ont été trouvées aussi dans les matières fécales en mars et avril. Les graines déféquées de *F. rubra* ont germé de façon significativement plus vite que les graines des fruits mûrs dans des conditions contrôlées, mais les taux de germination entre les deux étaient semblables. Les méthodes par Radio télémetrie et les observations d'individus marqués par des bandes fluorescentes ont révélé que *R. madagascariensis* suit une ligne droite d'au moins 8 km de distance entre le perchoir diurne et le site d'alimentation avec des parcours d'aller-retour allant jusqu'à 27 km. La plupart des jeunes ont été capturés entre les mois de mars et de juillet et nous en déduisons que le sevrage des jeunes commençait avant la 8ème semaine après la naissance. Les caractéristiques utilisées pour distinguer les jeunes des adultes n'étaient plus évidentes en décembre et il semble donc que *R. madagascariensis* atteint la maturité somatique au cours d'une année. La gestation, la lactation et le sevrage chez cette espèce coïncident avec l'été austral pendant lequel la disponibilité alimentaire est plus élevée.

2.2. INTRODUCTION

In tropical forests, the old world fruit eating bats exhibit high species diversity and play an active role in ecosystem function and forest regeneration (Heithaus 1982). Flight enables them to cover large distances in short periods, crossing different vegetation types and landscapes that could constitute physical barriers for other mammal species (Norberg & Rayner 1987). Differences in morphology and ecology (e.g., echolocation used by *Rousettus*) can also make some species more suited to foraging in specific habitats, such as the spatially complex forest interior or open areas (Norberg & Rayner 1987; Bernard 2001). In spite of their important role in tropical habitats, little is known about how fruit bats are affected by habitat fragmentation (Fenton *et al.* 1992). However, GorresenWillig (2004), demonstrated that the highest diversity of fruit bats occurred in landscapes comprising moderately fragmented forest habitat. Such information can contribute to a better understanding of the impact of such fragmentation on seed dispersers and pollinators and can be used in establishing conservation and management programmes. The native forest of Madagascar continues to be converted into agricultural land (Harper *et al.* 2007), and in the fragments that remain, bats and birds play important roles in seed dispersal and pollination, facilitating forest recovery (Howe & Smallwood 1982; Guevara & Laborde 1993).

The fruit bats of Madagascar (Pteropodidae) consist of three endemic species that differ in body mass, pelage and roosting ecology (MacKinnon *et al.* 2003). Advances have been made recently in describing the diet of the Madagascar flying fox *Pteropus rufus* E. Geoffroy, 1803 (Bollen & Van Elsacker 2002; Raheriarisena 2005; Long & Racey 2007) and its role in seed dispersal (Bollen *et al.* 2004; Racey *et al.* 2010). The diet of *Eidolon dupreanum* Schlegel, 1866 has also been studied at a few sites (Picot *et al.* 2007; Ratrimomanarivo 2007) and is believed to be one of the main pollinators of endemic baobabs *Adansonia grandidieri* and *Adansonia suarezensis* of Madagascar (Baum 1995). By contrast, the feeding ecology of the smallest fruit bat, *Rousettus madagascariensis* G. Grandidier, 1928, of Madagascar has yet to be studied, although it has been observed feeding on the fruits of *Litchis chinensis* and *Musa paradisiaca* (Sapindaceae and Musaceae, respectively; Goodman 1999) and *Dimocarpus longan* (Sapindaceae) (Andrianaivoarivelo *et al.* 2007).

Rousettus madagascariensis dwells in caves during the day (MacKinnon *et al.* 2003) and uses a variety of different habitat types at night, where it is easily trapped in mist nets (Andrianaivoarivelo *et al.* 2007). It is widely distributed in Madagascar and is classified as Near Threatened mainly because of hunting pressure (Andriafidison *et al.* 2008), although relatively

few roost sites have been located (MacKinnon *et al.* 2003; Goodman *et al.* 2005; Cardiff *et al.* 2009). MacKinnon *et al.* (2003) noted that this species is associated with native forest, and although Goodman *et al.* (2005) considered that it is not dependent on intact forest, the extent to which this reflects feeding or roosting requirements has been insufficiently explored. *Rousettus madagascariensis* has been netted inside *Eucalyptus* plantations and deciduous dry forest, where it flies along relatively open linear features such as trails and edges (Randrianandriananina *et al.* 2006; Kofoky *et al.* 2007).

Given its wide distribution, dietary requirements and small size, it is potentially an important seed disperser and pollinator in forests because the two other fruit bat species of Madagascar are relatively large and unable to fly within dense foliage. A better understanding of the foraging ecology of *R. madagascariensis* is therefore required to describe its role as a seed disperser and pollinator in different types of vegetation.

We studied a colony of *R. madagascariensis* in eastern Madagascar. Our objectives were (i) to describe the diet of *R. madagascariensis*, (ii) to assess its role in seed dispersal and germination, (iii) to describe aspects of its breeding biology, and (iv) to determine foraging habitats and movement patterns.

2.3. MATERIALS AND METHODS

2.3.1. Study site

Maromizaha Forest (930–1040 m a.s.l.) is found to the southeast of the Réserve Spéciale Analamazaotra, approximately 30 km from Moramanga in the Alaotra Mangoro Region, eastern Madagascar (48827911.50E, 18857940.50S). It is a classified forest (20,000 ha) in the public domain and at the time of study was managed jointly by Stiftung Natur und Artenschutz in den Tropen and the Direction des Eaux et Forêts, Madagascar. The forest contains at least 177 tree species some of which have high commercial value, e.g., *Canarium* spp., *Diospyros* spp., *Stephanostegia* spp. and *Uapaca* spp. (Abraham *et al.* 1996), and more than 200 species of orchids. Also present are exotic plants such as *Clidemia hirta*, *Psiadia altissima*, and *Lantana camara* (Koechlin *et al.* 1974; Ford 1996), as well as pioneer native tree species such as *Trema orientalis* and *Harungana madagascariensis* (Hladik *et al.* 2000). Annual rainfall is proximately 2000 mm and heaviest precipitation occurs in January and February (Service de la Météorologie d'Ampanzianomby, Antananarivo). The dry and cold season extends from June to October and

is characterised by drizzle and fog. The monthly average temperature varies between 14°C and 24°C. We obtained information on precipitation and temperature from the recording station at Analamazaotra, 3 km west of Maromizaha.

We studied a colony of *R. madagascariensis* in a cave located above an abandoned quarry, in the northwestern edge of the Maromizaha forest. The main landscape and habitat features in the study area were a road (Route Nationale 2), mid-altitude humid forest, *Eucalyptus* plantations, open grassland and villages with associated small-scale agriculture (Figure 2.1). Two entrances of the Maromizaha cave were accessible by people and used by bats, and the height from the floor to the ceiling was approximately 15 m. The cave interior was 17.6 m long (east to west), and the eastern entrance (1.4 m high and 0.9 m wide) was larger than the western entrance (0.6 m high and 0.8 m wide). Bats also emerged from two other narrow entrances in the western side of the cave, which are inaccessible to people. *Mormopterus jugularis* (Peters, 1865), a molossid bat, also occupied the cave and two individuals were trapped in March 2005.

2.3.2. Mist netting

Mist nets (2=6 m and 1=12 m) were erected on sloping grass banks outside the western entrances of the cave during the afternoon before each trapping session. We were unable to install mist nets at the other entrances because of the presence of vegetation or the risk of personal injury. Mist nets were opened the following morning before dawn from 03 :00 to 04 :30 h and bats were trapped as they returned to the roost so that we were able to sample bats that had recently fed. Between July 2004 and May 2005 we trapped bats during six occasions (16 and 17 July 2004, 9–19 October 2004, 13 December 2004, 11–22 January 2005, 22–30 March 2005, 23–29 May 2005).

We also placed mist nets along trails in the relatively intact forest situated on the edge of the quarry and on one occasion erected nets next to a fruiting *Ficus soroceoides* tree. We calculated the bat capture rate and expressed it throughout as number of bats caught per 6 m of mist net deployed for 1 h. We also placed mist nets in sites (small banana plantations *Musa paradisiaca*) identified during the radio-tracking component of this study at increasing distances (3.8 km, 5.6 km, 7.0 km, 8.1 km and 11.4 km) from the roost to determine the distances travelled by the bats from the cave. Nets were open for 3 h at these localities, starting 1 h after sunset. The maximum lower and upper heights of the net were 1 and 5 m, respectively. Bats were fitted with chemiluminescent light tags (Buchler 1976) weighing 0.5 g by gluing them (with Silastic

medical adhesive) to the dorsal surface of the bat. The light tag remained bright for 20 h and allowed us to see if the bats captured in the banana plantations roosted in the Maromizaha cave. We were unable to reliably assess the colony size during the day because the bats roosted high up in crevices in the cave that were not clearly visible. However, the number of individuals was estimated at 400.

2.3.3. Diet : faecal collection

Plastic sheeting was placed on the cave floor directly under roosting bats and faecal samples were collected every 2 weeks between July 2004 and May 2005. Faecal matter was removed, sun-dried and stored for later identification. Collections of fruits were made every month throughout the study to create a seed reference collection. Faeces were sorted under a low-power microscope and seeds were extracted and identified using the reference collection made in the field and those held at an herbarium at the Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza in Antananarivo.

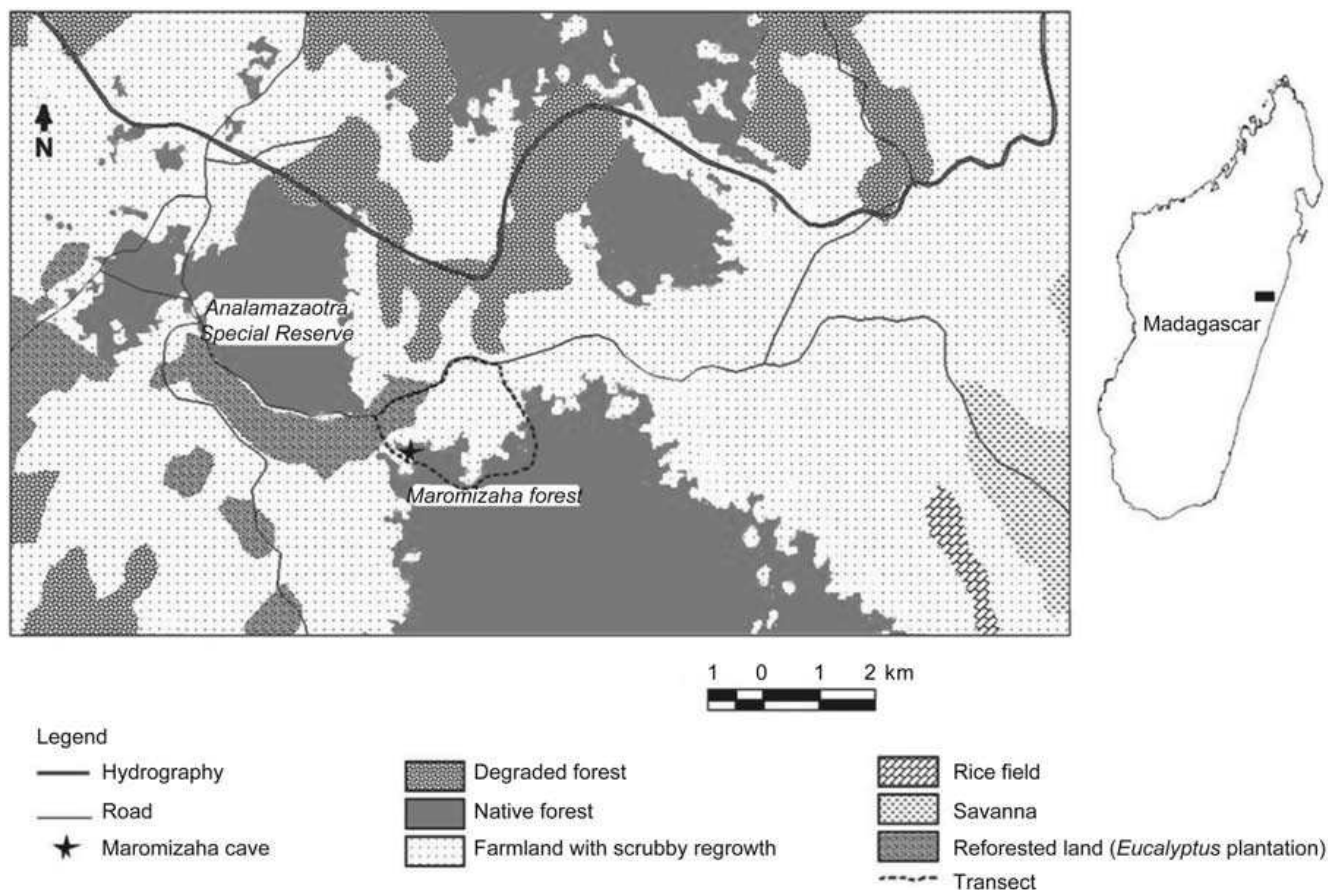


Figure 2. 1 : Vegetation and transect map of Maromizaha study site, eastern Madagascar.

We observed seeds from sample fruits and/or those from faeces. The seed samples were identified by two of the authors (A.A.R. and N.R.) by comparing them with reference collections held at the Tsimbazaza herbarium in Antananarivo. We followed the taxonomy used by Berg & van Heusden (1985), Turk (1995) and the online Missouri Botanical Gardens (Tropico database). The length and width of seeds were measured using an eyepiece reticule.

2.3.4. Diet : fruit transects

A 8.2-km transect crossing three habitats (Figure 2.1), native forest (3.4 km), reforested *Eucalyptus* plantation (0.5 km) and farmland with scrubby regrowth (4.3 km) in the study area was surveyed for the presence or absence of fruit and flowers each month from October 2004 to April 2005. Fruits were collected and their seeds dried, measured and glued on the slide or put in an envelope and stored in the office in Antananarivo for reference and later identification. A short questionnaire survey was carried out in villages near the transect to investigate the level of awareness of local people about fruit bats feeding in their banana plantations.

2.3.5. Diet : germination trials

Germination of *Ficus rubra* seeds extracted from bat faeces was compared to those taken from ripe fruits (Fleming & Sosa 1994; Naranjo *et al.* 2003). Seeds taken from intact fruits were washed, dried and stored before processing. Seeds taken from faeces were either collected 2 weeks (trial 1) or 4 weeks (trial 2) before the experiment started. Seeds were washed with fungicide and arranged on moistened filter paper and placed in a 8X8-cm covered box for germination (Lieberman *et al.* 1979). Ten seeds were sown in each box and six boxes were used for each treatment, giving 60 seeds for each of the two treatments (seeds collected from faeces and seeds collected from fruits). All trials were conducted in Antananarivo in partial shade and at room temperature and natural day length (i.e., 15–28°C and ~ 12 h of daylight). Boxes were inspected every 2 days for signs of germination using a hand lens, until several successive inspections revealed no further germination (~1 month). The filter paper was watered regularly. A seed was considered to have germinated upon the first appearance of the radicle (Janzen 1978; Utzurrum & Heideman 1991). The effect of the passage of the seeds through the digestive system of *R. madagascariensis* was assessed using two analysis of variance (ANOVA)

comparisons. The first used the number of germinated seeds as the dependent variable and the second used mean number of days to germination.

2.3.6. Habitat use : radio tracking and mapping movements

Six adult bats, three male and three female, were fitted with collars incorporating PD-2 radio transmitters (Holohill Systems Ltd., Carp, Canada). Collars consisted of plastic sheaths with thin wire inside joined by a biodegradable link. Complete units weighed no more than 3 g (~4.5% of the body mass) and had an expected life of 12 weeks. Bats with radio tags were released within 1 h of capture but were not followed until the subsequent night. Bats were followed from when they emerged from the cave until they returned the following morning. Signals from the radio transmitters were monitored using Yagi directional antennae connected to Regal 2000 receivers (Titley Electronics, Ballina, Australia). Two teams consisting of two or three people tracked the bats on foot or from a vehicle during January, March and April 2005 for a total of 22 nights.

Fixed reference points were made at a number of locations within the study site and logged on a GPS unit. Bearings were taken on a handheld compass and were read to the nearest degree. Positions of stationary bats were determined by triangulation from either the fixed points or from mobile tracking teams in radio contact with handheld radios (Motorola Talkabout, Raleigh, NC, USA). Bearings, time, signal strength and gain were recorded every 5 min. Owing to the hilly terrain we regularly lost radio contact with focal animals. We tracked feeding or stationary bats to actual foraging sites. Fixes, determined from triangulation or direct observation, were transferred onto a large-scale (1/100,000) topographic map using MapSource.exe and ArcView GIS 3.3 (Applegate 1991–1995). We measured the straight-line distance between roost and capture sites using fixes obtained in the field with a GPS in ArcView GIS 3.3. We also calculated minimum convex polygons from the triangulated points to represent the minimum possible area that contains all the points and can be imagined as the surface area used by the bats.

2.3.7. Breeding biology

Bats were measured (forearm length in mm and body mass in g), sexed by observing the conspicuous penis or a single anterior pair of nipples (Racey 1988). Juvenile bats were distinguished from adults by the presence of cartilaginous epiphyseal plates in finger bones (Anthony 1988). Females were classified as lactating, pregnant, parous or nulliparous (Racey

1988). Juvenile bats were those weighing less than 50 g and with unfused phalangeal epiphyses. Bats were released at the capture site within 15 min of capture and always before sunrise. Individual bats were fur clipped so that recaptures during the same field trip could be identified. However, they were not individually marked and it is possible that we recaptured the same individual on successive field trips. ANOVA was used to test for differences in body mass between sexes and seasons.

2.4. RESULTS

A total of 175 *Rousettus madagascariensis* were captured (116 adults and 59 juveniles, 96 females and 79 males). The variation in the number of captured bats returning to the roost appeared to be unrelated to trapping effort, and captures were lowest during May (Tableau 2.1). Most captures ($n = 153$) occurred at the cave entrance (423 net h), but six bats were trapped in relatively intact humid forest (240 net h) and 16 in banana plantations (270 net h).

2.4.1. Diet : species consumed, fruit availability and seed germination

Most of the faeces appeared as green or brown-green dense matter that was composed of leaves or unripe fruit. Seeds of six plant species were also found in the faeces but they were only common in the diet during March and April (Tableau 2.2). The species of Solanaceae and Rosaceae recorded in the faeces were not found during the fruit transects but the four *Ficus* species were observed fruiting in relatively intact humid forest. *Rousettus madagascariensis* voided seeds with a mean length of 2.5 mm (Tableau 2.2). Ripe fruit of *F. rubra* was observed in native forest and its seeds were present in bat faeces in February 2005. A single *Dyopsis* sp. seed (11 X 14 mm) was collected beneath roosting bats in the cave. We found no evidence of banana fruits being eaten by bats and the farmers did not report damage to their fruits except by rats. A total of 47 plant species from 26 families fruited during the transect survey. Out of these 17 of the species identified were collected in the degraded habitat and farmland, and 29 in the native forest (Tableau 2.3). Even though the invasive and introduced species *Psidium cattleianum* (Myrtaceae) and *Clidemia hirta* (Melastomataceae) fruited during March at the study site they were not evident in the faeces.

Tableau 2. 1 : The numbers of *Rousettus madagascariensis* of different reproductive status caught returning to a cave roost in Maromizaha, eastern Madagascar (2004–2005).

	Adult male	Adult Parous female	Nulliparous female	Lactating female	Pregnant female	With Pup female	Juvenile female	Juvenile male	Total female	Total male	Total Caught
July (3)	03	10	03	00	00	00	02	00	15	03	18
October (3)	25	04	03	00	01	00	03	00	11	25	36
December (1)	03	00	00	00	03	07	00	00	10	03	13
January (3)	19	09	01	00	00	05	15	03	30	22	52
March (6)	06	08	00	00	00	00	08	05	16	11	27
May (3)	00	02	00	00	00	00	04	01	06	01	07

The duration (days) of each trapping session is given in parentheses. Females were classified as lactating, pregnant, parous or nulliparous (Racey 1988). Pregnant females were netted in October and December, and no juvenile bats were captured in December.

Tableau 2. 2 : The timing and frequency of occurrence of seeds of plant species recovered in the faeces of *Rousettus madagascariensis* in Maromizaha, eastern Madagascar (2004–2005).

Month	Number of samples	Moraceae			Rosaceae <i>Rubus mollucanus</i>	Solanaceae sp. a
		<i>F. soroceoides</i>	<i>F. botryoïdes</i>	<i>F. rubra</i>		
October 2004	24	0	0	0	1	1
February 2005	186	0	0	3	0	0
March 2005	107	1	3	17	0	1
April 2005	207	0	0	44	0	0
Seed length (mm)		1.0 ± 0.02 (n = 13)	1.4 ± 0.02 (n = 3)	1.3 ± 0.03 (n = 13)	1.43 ± 0.02 (n = 4)	2.5 ± 0.04 (n = 4)

Ficus rubra was the most commonly occurring seed in bat faeces.

Ficus rubra seeds that passed through the gut of *Rousettus madagascariensis* germinated significantly faster than those extracted from the fruits (ANOVA $F_{2,6} = 308$, $p \leq 0001$). Seeds which had passed through the gut germinated 2.7 days ± 0.21 days (trial 1) and 2.0 days ± 0.00 SE (trial 2) after sowing, whereas those collected from ripe fruit germinated after 9.0 days ± 0.26 SE. Percentage germination, however, was similar across the three treatments (ANOVA $F_{2,6} = 0.4$, NS).

2.4.2. Habitat use

Of the six bats fitted with radio collars, only one male and one female were subsequently located often enough to allow an assessment of movements and range. The maximum straight-line distance covered by individual radio tagged bats was 14.2 km (females) and 14.8 km (males) in a single night. On two occasions for each bat, we maintained contact throughout the foraging period, from dusk until approximately 03 :30 h, when bats flew back to the roost. On 24 and 30 March 2005, the female made round-trip foraging flights of 24.0 km and 27.2 km, respectively (Figure 2.2), whereas on 26 March and 1 April 2005, the male made round-trip foraging flights of 17.0 km and 16.0 km, respectively (Figure 2.2). Minimum convex polygons, based on data collected throughout the study, were 30.9 km² for the female and 16.7 km² for the male (Figure 2.3).

A total of 16 bats were netted and fitted with light tags whilst feeding on the nectar of banana flowers at five sites. Three of these bats were later observed in the roost, between 4.0 km and 8.1 km from the site of capture. The longest straight line travelled between roost and foraging sites from radio tracking and light tags were 7 km and 8.1 km, respectively. Four other bats were trapped, but not fitted with light tags, in relatively intact forest whilst flying along trails in October and one in March. Trails were 1–2 m wide and the bats were netted in areas between forest trees.

2.4.3. Breeding biology

Captures of males outnumbered those of females during one of the six trapping sessions (Tableau 2.1). The body mass of adult females differed significantly between trapping sessions (Figure 2.4) and was heavier in December and January (wet season) when pregnancy and lactation occurred, and lowest in May and July (ANOVA $F_{1,47} = 11.61$, $p < 0.02$). Pregnant females weighed more than non-pregnant adult females (ANOVA $F_{3,93} = 72.66$, $p \leq 0.0001$). Male body mass did not vary significantly between season (ANOVA, $F_{1,58} = 0.07$, $p = 0.42$) but was lowest in May (Figure 2.4).

Pregnancy was observed during October and December. All lactating bats trapped in December and January were carrying young. Juvenile bats were netted during all months of capture with the exception of December. The features used to distinguish adults and juveniles

were no longer evident in December and, thus, *Rousettus madagascariensis* reached somatic maturity within a single year.

2.5. DISCUSSION

This is the first extended study of the diet, habitat use and breeding biology of *Rousettus madagascariensis* and reveals that it rarely ingests seeds but feeds on both native and introduced plants within and can travel at least 8 km straight-line distance in search of food.

2.5.1. Diet and feeding

Seeds were relatively rare in the diet of *R. madagascariensis* compared to the two larger Malagasy fruit bats (Bollen & Van Elsacker 2002; Long & Racey 2007; Picot *et al.* 2007). The largest seeds in the faeces of *R. madagascariensis* during this study were notably smaller than the largest recorded for the other Malagasy fruit bats, *Pteropus rufus* (10 mm; Bollen & Van Elsacker 2002) and *Eidolon dupreanum* (7 mm; Picot *et al.* 2007). However, observations in eastern Madagascar show that *R. madagascariensis* frequently carries fruit in its mouth from feeding trees and that the size of consumed fruits can therefore be underestimated if based entirely on the occurrence of seeds in faeces (Andrianaivoarivelo *et al.* 2007). The bats were observed feeding on banana nectar and this mixed diet of nectar and seeds have been observed in other small pteropodids, such as *R. leschenaultii* (Singaravelan & Marimuthu 2004) and *R. obliviosus* (Reason *et al.* 1994; Sewall *et al.* 2003).

There was strong seasonality in the occurrence of seeds in the faeces, which was restricted to the warm, wet season (February–April). However, we also trapped a bat at a fruiting *Ficus* tree in October. In South Africa, observations of fruiting trees revealed that *R. aegyptiacus* fed mainly on *Ficus* spp., although other fruits, such as litchis *Litchis chinensis* and jamba *Syzygium* spp. were also consumed during other seasons (Jacobsen & Du Plessis 1976).

2.5.2. Seed dispersal and germination

Our results show that *Rousettus madagascariensis* ingests small seeds when consuming *Ficus rubra* fruits, and that these seeds germinated significantly faster after they had passed through the digestive tract of bats. More research is required to investigate the ability of such seeds to germinate under natural conditions. Other mammals in Madagascar have similar positive effects on seed germination and there is evidence that both lemurs and bats increase either the rate of

germination or its success (Dew & Wright 1998; Picot *et al.* 2007). The rapid germination of seeds recovered from faeces indicates that zoochory by *R. madagascariensis* is a viable life history tactic for plants such as *F. rubra*, but similar studies with other *Rousettus* species have found no significant impact on germination after passage through the bats (Izahaki *et al.* 1995; Tang *et al.* 2007).

The full extent of the role of *R. madagascariensis* as a seed disperser and pollinator in eastern Madagascar remains to be described. It has a clear potential as a seed disperser because it defecates and transports viable seeds (Andrianaivoarivelo *et al.* 2007). Importantly, *R. madagascariensis* can regularly traverse areas of open grassland, up to 8.1 km in our study, and therefore has the potential to link isolated forest fragments, in much the same way that *Pteropus rufus* does in southeastern Madagascar (Bollen & Van Elsacker 2002; Bollen *et al.* 2004; Long & Racey 2007). More information is now required on the distribution and fate of seeds dispersed by *R. madagascariensis*.

2.5.3. Habitat use and movement

The longest straight-line distance between the *Rousettus madagascariensis* roost and foraging sites from radio tracking and chemiluminescent light tags were 7.0 km and 8.1 km, respectively, a limit that might have reflected the end point of our transects as much as the bats ability to travel greater distances. In South Africa, *R. aegyptiacus* was radio tracked travelling 24 km between its roosts and foraging sites (Jacobsen & Du Plessis 1976). The distance travelled is likely to be a function of food availability or its distribution. The lack of alternative roost sites and nectar available in abundance in banana plantations not far from the cave could be possible explanations of the regular movements recorded in the present study.

Mist netting demonstrated that *R. madagascariensis* forages in relatively intact forest and highly modified habitats close to villages. A previous study in close proximity to the Maromizaha cave netted *R. madagascariensis* in a Eucalyptus plantation and not a single individual of this species was netted in relatively intact humid forest despite considerable effort (Randrianandriananina *et al.* 2006). Nevertheless, the presence of *Ficus* spp. in the diet of *R. madagascariensis* and its capture within the forest indicates that it has a potentially unique role amongst Malagasy fruit bats through its mobility below the canopy. In Africa, *R. aegyptiacus* foraged on *Ficus* spp. inside the forest canopy and dispersed seeds whilst flying and consuming fruit on perches (Mutere 1968; Jacobsen & Du Plessis 1976). *Rousettus obliviosus* is also reported to be highly manoeuvrable, capable of flying inside closed forest (Sewall *et al.* 2003). In

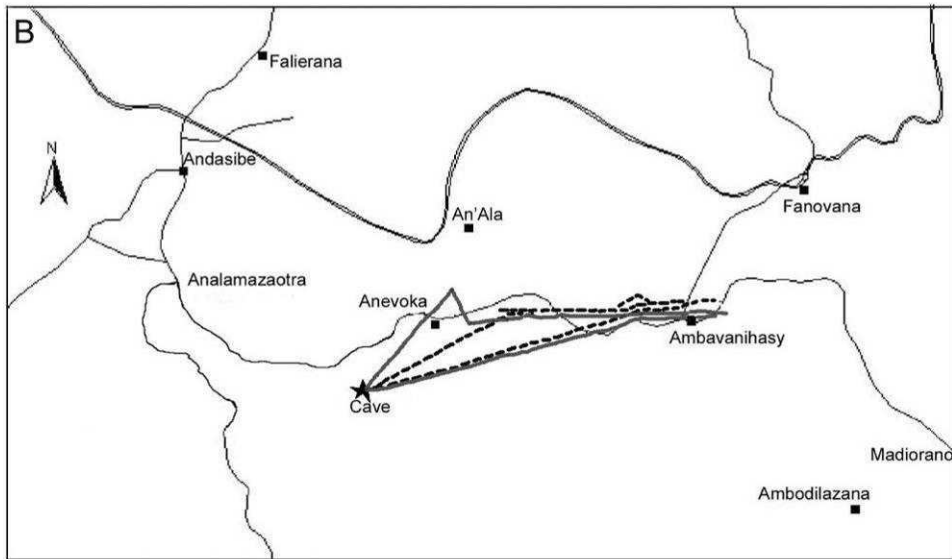
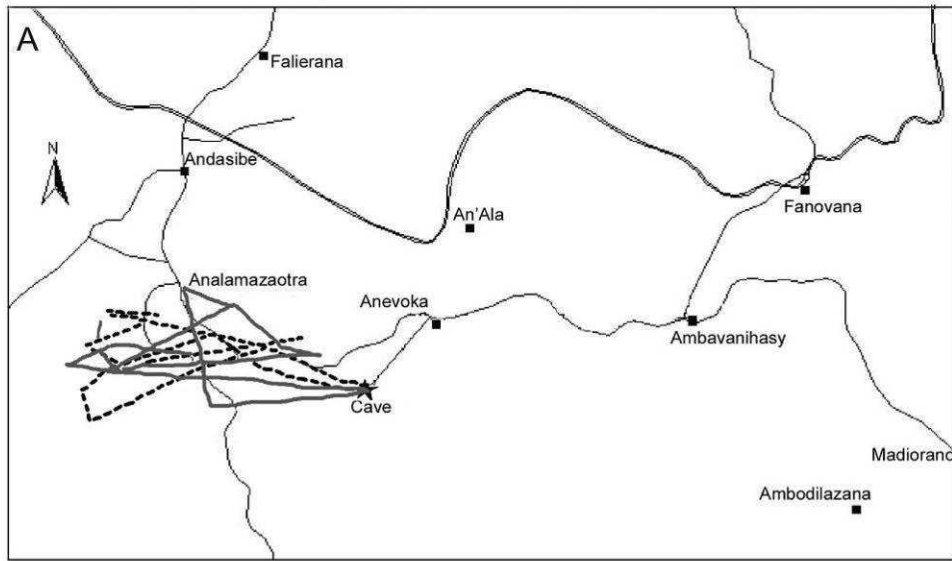
the Bemaraha karst formation, *R. madagascariensis* was significantly more abundant in the forest gaps and edge than in the cleared habitat or grazing pasture, indicating that this species appeared to rely on native forest whilst foraging (Kofoky *et al.* 2007).

Tableau 2. 3 : Fruiting plant species observed in a given month on a transect and in bat faeces (in bold font) in Maromizaha, eastern Madagascar (2004–2005).

Family	Genus/Species	Habitat	Seed (mm)		Months						
			Width	Length	Jan	Feb	Mar	Apr	Oct	Nov	Dec
Anacardiaceae	<i>Protorhus</i> ⁿ	F	12.00	20.00				x			
Flacourtiaceae	<i>Aphloia theiformis</i> ⁿ	F	3.18	3.83	x	x					
Arecaceae	<i>Dypsis</i> sp. 1 ^e	F	3.33	9.83		x		x			
	<i>Dypsis</i> sp. 2^e	F	12.30	9.60							
Buddleiaceae	<i>Buddleia</i> sp. ⁿ	D	0.70	0.20					x		x
Burceraceae	<i>Canarium boivini</i> ^e	F	11.00	29.00			x				
Clusiaceae	<i>Symphonia fasciculata</i> ^e	D	8.68	15.75					x		
Euphorbiaceae	<i>Macaranga</i> sp. ^e	D	2.78	7.13						x	x
Flacourtiaceae	<i>Homalium</i> ⁿ	F	1.65	3.55			x				
Melastomataceae	<i>Dichaetantera oblongifolia</i> ^e	F	0.17	0.30	x						
	<i>Clidemia hirta</i> ⁱ	F	0.31	0.45			x				
	<i>Memecylon</i> sp. ⁿ	D	7.55	9.10						x	x
Monimiaceae	<i>Tambourissa</i>^e	F	0.65	0.84			x				
Moraceae	<i>Bleekrodea</i>	F	0.64	1.10						x	
	<i>madagascariensis</i> ^e										x
	<i>Ficus soroceoides</i>^{e,a}	F, C	0.67	1.05	x		x	x			
	<i>F. botryoides</i>^{e,b}	F	0.65	0.81	x	x	x				
	<i>F. rubra</i>^{e,c}	F	0.88	1.40		x	x	x			
	<i>F. lutea</i> ^{n,b}	F	0.78	1.00			x	x			
	<i>Ficus</i> sp. 1	F	0.75	1.22							x
Myrsinaceae	<i>Oncostemum</i> sp.	F	4.45	5.30					x		
	<i>Maesa lanceolata</i>	F	2.10	2.33	x	x	x				
	<i>Memecylon</i> sp. ^e	F	7.55	9.10					x		
Myrtaceae	<i>Psidium cattleianum</i> ⁱ	D	3.51	4.00			x	x			
	<i>Syzigium emirnensis</i> ^e	F	8.45	9.65	x	x					
Olacaceae	<i>Olax</i> sp. ⁿ	F	8.30	15.20							x
Passifloraceae	<i>Passiflora</i> sp. ⁱ	F	4.43	7.13						x	x
Phytolacaceae	<i>Phytolaca dodecandra</i> ⁱ	D	2.08	2.65	x	x	x				
Piperaceae	<i>Piper</i> sp. ⁿ	F	2.33	2.15			x		x		
	<i>P. borbonense</i> ^e	F	2.77	3.15					x		
Rosaceae	<i>Rubus mollucanus</i>ⁱ	D	0.76	1.43		x			x		x
	<i>R. roridus</i> ⁱ	D	2.61	3.87					x	x	
Rubiaceae	<i>Sabicea diversifolia</i> ^e	D	0.24	0.29	x	x					
	<i>Mapouria parkeri</i> ^e	D	4.31	4.28		x					
	<i>Sabicea</i> sp. ^e	D	0.18	0.39			x				
	<i>Enterospermum</i> ^e	F	5.30	4.83				x			
	<i>Tricalysia cryptocalyx</i> ^e	F	2.40	5.00				x			
	<i>Craterispermum</i> ⁿ	D	0.48	0.61					x		
	<i>Mapouria</i> sp.	F	4.25	15.90					x	x	
Salicaceae	<i>Scolopia</i> sp. ⁿ	D	7.85	9.18					x	x	
Sapindaceae	<i>Allophylus cobbe</i> ⁱ	F	8.20	7.55			x				
Sapotaceae	<i>Faucherea</i> sp. ^e	F	3.90	5.48					x	x	x
Smilacaceae	<i>Smilax kraussiana</i> ⁱ	D	3.98	5.10				x			
Solanaceae	<i>Physalis</i> sp. ⁱ	D	1.52	2.00			x	x	x	x	x
	<i>Solanum auriculatum</i> ⁱ	D	1.34	2.00	x				x	x	x
	Unknown sp.		2.25	2.47							
Sterculiaceae	<i>Dombeya</i> sp.	F	1.32	1.85					x	x	x
Verbenaceae	<i>Lantana camara</i>	D	3.04	3.75	x		x	x			x

Source : 'a' Berg and van Heusden (1985); 'b' Missouri Botanical Garden (Tropico database); 'c' Turk (1995). F : native forest, D : degraded habitats and farmlands, C : cave, x : the fruit species were found along a transect.

Faecal samples contained *Ficus* seeds during the rainy season, but those collected in the dry season were lacking seeds. Bats ingested small seeds but can transport large seeds to the cave. The plants are noted if endemic (e) native (n) or introduced (i).



2 0 2 km

A : F#1

B : M#2

- *R. madagascariensis* female (F#1)

- *R. madagascariensis* male (M#2)

--- Distance: 23.70km (24 March 05)

--- Distance: 17.34 (26 March 05)

— Road

— Distance: 27.16km (30 March 05)

— Distance: 15.92 (01 April 05)

— River

■ Village

Figure 2. 2 : Movements of two *Rousettus madagascariensis* determined by radio tracking from the time the bats emerged to feed until they returned to the roost.

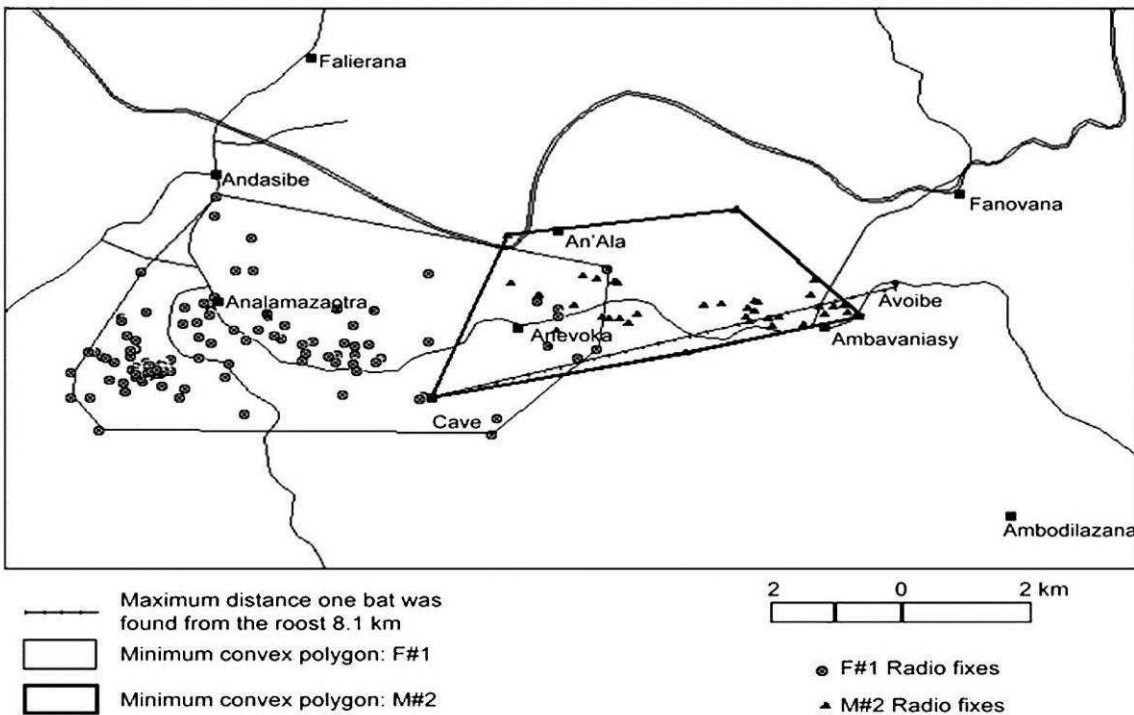


Figure 2. 3 : Minimum convex polygons of radio fixes for an adult female (grey line) and male (black line) *Rousettus madagascariensis* determined by radio telemetry. The female bat had a larger home range that overlapped with the male.

2.5.4. Breeding biology

The climatic data collected in Analamazaotra showed a pronounced rainfall peak from February to April (summer) and low temperature in June to July. The low body mass of *Rousettus madagascariensis* during May and July could be related to an increase in basal metabolic rate triggered by low temperature and food scarcity (McNab 1969), as also reported for *R. aegyptiacus* (Jacobsen & Du Plessis 1976). Bat body mass and reproduction period can be influenced by native and exotic fruit availability and phenology. However, overall fruit availability varies seasonally in the eastern forests of Madagascar, with the summer being more productive than the winter (Overdorff & Hemingway 1999). Similarly, the peak of fruit production in a single *Ficus* sp. tree was in the summer in the eastern rainforest (Goodman *et al.* 1997). The absence of *Ficus* seeds in the faeces of *R. madagascariensis* during the winter could reflect a genuine dietary preference, with the bats feeding on nectar, or the low availability of *Ficus* fruits in the vicinity of the study site. Another possibility is that the bats fed on larger fruits during the winter with seeds too large to ingest. Further research at our study site is necessary to

investigate the reason for the seasonal occurrence of *Ficus* seeds in the diet of *R. madagascariensis*.

Cumming & Bernard (1997) found that parturition in African Chiroptera occurs 1–2 months before peak rainfall, and that also seemed to be the case for *R. madagascariensis* in our study site. Lactation or parturition occurred in the early rainy season and females carried young in flight during December and January 1 or 2 months before the peak rainfall in February or March. There was a high proportion of seed in the diet after weaning, towards the end of the wet season (March and April). Therefore, *R. madagascariensis*, like other fruit bats, probably times its breeding to coincide with high temperature and food availability in the austral summer. From the dates that pregnant and lactating bats were observed, we infer that weaning at Maromizaha started before 8 weeks of age. According to Korine & Arad (1999), the offspring of *R. aegyptiacus* are totally dependent on their mothers for the first 6 weeks of life.

Rousettus in Africa have different breeding strategies that are presumably based on local environmental conditions (Mutere 1968; Jacobsen & Du Plessis 1976; Reason *et al.* 1994). Our results suggest that *R. madagascariensis* in Maromizaha was monoestrous and the absence of juvenile bats in December suggests that they reach somatic maturity in a single year. The single breeding season of *R. madagascariensis* is also the case for other studied tropical fruit bats (Racey & Entwistle 2000), although *R. aegyptiacus* in Uganda exceptionally has a bimodal breeding pattern that can be correlated to two distinct rainfall peaks (Mutere 1968).

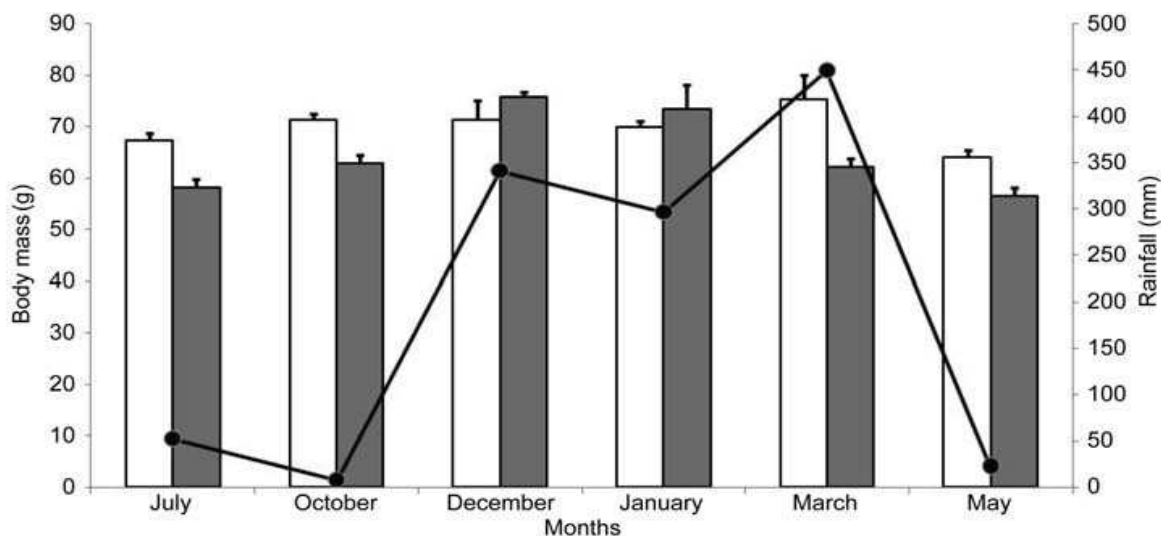


Figure 2. 4 : Mean ("SE) body mass of adult male and female *Rousettus madagascariensis* caught returning to a cave roost in Maromizaha, eastern Madagascar. Monthly average rainfall

(black line) is given for the period 1984–1994 from a weather station 3 km west of Maromizaha. Adult males (open bar) were heavier than females (shaded bar) except during pregnancy.

2.6. ACKNOWLEDGEMENTS

This project was funded by grants from the Wildlife Conservation Society (African Small Grants Programme), Disney Wildlife Conservation Fund, BP Conservation Leadership Programme and the Darwin Initiative. We received excellent support from Dr. Daniel Rakotondravony, and Chantal Andrianarivo helped us to obtain permission to work at the site. In the field, we are indebted to the assistance of Félicien H. Randrianandrianina, Andrianjoro Rakotoarivelo, Rosaline L. Rampilamanana and Rabe H. Andrianandrasana. Victor Rakotoboavonjy assisted data collection. We are grateful to two anonymous reviewers for helpful comments on this manuscript.

2.7. REFERENCES

- Abraham, J., R. Benja, M. Randrianasolo, J.U. Ganzhorn, V. Jeannoda and E.G. Leigh. 1996. Tree diversity on small plots in Madagascar : a preliminary review. *Rev. Ecol. (Terre Vie)* 51 : 93–116.
- Andriafidison, D., S.G. Cardiff, S.M. Goodman, A.M. Hutson, R.K.B. Jenkins, A.F. Kofoky, P.A. Racey, J. Ranivo, F.H. Ratrimomanarivo and H.J. Razafimanahaka. 2008. *Rousettus madagascariensis*. In : IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.3. Available at : www.iucnredlist.org. Downloaded on 28 September 2010.
- Andrianaivoarivelo, R.A., O.R. Ramilijaona and D. Andriafidison. 2007. *Rousettus madagascariensis* Grandidier 1929 feeding on *Dimnocarpus longan* in Madagascar. *Afr. Bat Conserv. News* 11 : 3–4.
- Anthony, E.L.P. 1988. Age determination in bats. In : (T.H. Kunz, ed.) *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC. pp. 47–58.
- Applegate, A.D. 1991–1995. ArcView GIS 3.3. Environment Systems Research Institute Inc. Technologies Ltd., New Delhi, India.
- Baum, D.A. 1995. The comparative pollination and floral biology of baobabs *Adansonia* – Bombacaceae. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 82 : 323–348.

- Berg, C.C. and E.C.H. van Heusden. 1985. Moracées. In : (J. Bosser, T. Cadet, J. Guého, and W. Marais, eds.) Flore des Mascareignes. Sugar Industry Research Institute, Mauritius; ORSTOM, Paris; Royal Botanic Gardens, Kew. pp. 1–21.
- Bernard, E. 2001. Vertical stratification of bat communities in primary forests of Central Amazon. Brazil. J. Trop. Ecol. 17 : 115–128.
- Bollen, A. and L. Van Elsacker. 2002. Feeding ecology of *Pteropus rufus* Pteropodidae in the littoral forest of Sainte Luce, SE Madagascar. Acta Chiropt. 4 : 33–47.
- Bollen, A., L. Van Elsacker and J.U. Ganzhorn. 2004. Relations between fruits and disperser assemblages in a Malagasy littoral forest : a community-level approach. J. Trop. Ecol. 20 : 599–612.
- Buchler, E.R. 1976. A chemiluminescent tag for tracking bats and other small nocturnal mammals. J. Mammal. 57 : 173–176.
- Cardiff, S.G., F.H. Ratrimomanarivo, G. Rember and S.M. Goodman. 2009. Hunting, disturbance and roost persistence of bats in caves at Ankarana, northern Madagascar. Afr. J. Ecol. 47 : 647–649.
- Cumming, G.S. and R.T.F. Bernard. 1997. Rainfall, food abundance and timing of parturition in African bats. Oecologia 111 : 309–317.
- Dew, J.L. and P.C. Wright. 1998. Frugivory and seed dispersal by four species of primates in Madagascar's eastern rainforest. Biotropica 30 : 425–437.
- Fenton, M.B., L. Acharya, D. Audet, M.B. Hickey, C. Merriman, M. Obrist and S.M. Syme. 1992. Phyllostomid bats (Chiroptera Phyllostomidae) as indicators of habitat disruption in the Neotropics. Biotropica 24 : 440–446.
- Fleming, T.H. and V.J. Sosa. 1994. Effects of nectarivorous and frugivorous mammals on reproductive success of plants. J. Mammal. 75 : 845–851.
- Ford, R. 1996. Negotiating conservation : reflections on linking, conservation and development in Madagascar. Clark University, Worcester, MA, USA.
- Goodman, S.M. 1999. Notes on the bats of the Réserve Naturelle Intégrale d'Andohahela and surrounding areas of southeastern Madagascar. Field. Zool. N.S. 94 : 251–257.
- Goodman, S.M., J.U. Ganzhorn and L. Wilmé. 1997. Observations at a *Ficus* tree in Malagasy humid forest. Biotropica 29 : 480–488.
- Goodman, S.M., D. Andriafidison, A.R. Andrianaivoarivelo, S.G. Cardiff, E. Ifticene, R.K.B. Jenkins, A.F. Kofoky, T. Mbohoahy, D. Rakotondravony, J. Ranivo, F. Ratrimomanarivo, J.

- Razafimanahaka, V. Razakarivony and P.A. Racey. 2005. The distribution and conservation of bats in the dry regions of Madagascar. *Anim. Conserv.* 8 : 153–165.
doi: <http://dx.doi.org/10.1644/BWG-125>
- Gorresen P. M. and M. R. Williga. 2004. Landscape responses of bats to habitat fragmentation in atlantic forest of Paraguay. *Journal of Mammalogy* 85 : 688–697.
- Guevara, G. and J. Laborde. 1993. Monitoring seed dispersal at isolated standing trees in tropical pastures : consequences for local species availability. In : (T.H. Fleming and A. Estrada, eds.) *Frugivory and seed dispersal : ecological and evolutionary aspects*. Kluwer Academic, Dordrecht. pp. 319–338.
- Harper, G.J., M.K. Steininger, C.J. Tucker, D. Juhn and A.F.A. Hawkins. 2007. Fifty years of deforestation and forest fragmentation in Madagascar. *Environ. Conserv.* 34 : 1–9.
- Heithaus, E.R. 1982. Coevolution between bats and plants. In : (T.H. Kunz, ed.) *Ecology of bats*. Plenum Press, New York. pp. 327–367.
- Hladik, A., P. Blanc, N. Dumetz, V. Jeannoda and C. Hladik. 2000. Données sur la répartition géographique du genre *Ravenala* et sur son rôle dans la dynamique forestière à Madagascar. In : (W.R. Lourenço and S.M. Goodman, eds.) *Diversité et endémisme à Madagascar*. Mémoires de la Société de Biogéographie, Paris. pp. 93–104.
- Howe, H.F. and J. Smallwood. 1982. Ecology of seed dispersal. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 13 : 201–228.
- Izahaki, I., C. Korine and Z. Arad. 1995. The effect of bat *Rousettus aegyptiacus* dispersal on seed germination in eastern Mediterranean habitats. *Oecologia* 101 : 335–342.
- Jacobsen, N.H.G. and E. Du Plessis. 1976. Observation of the ecology and biology of the Cape Fruit Bat *Rousettus aegyptiacus leachi* in the eastern Transvaal. *S. Afr. J. Sci.* 72 : 270–273.
- Janzen, D.H. 1978. A bat-generated Fig seed shadow in rainforest. *Biotropica* 10 : 121.
- Koechlin, J., J.L. Guillaumet and P. Morat. 1974. *Flore et végétation de Madagascar*. J. Cramer, Vaduz.
- Kofoky, A.F., D. Andriafidison, F.H. Ratrimomanarivo, H.J. Razafimanahaka, D. Rakotondravony, P.A. Racey and R.K.B. Jenkins. 2007. Habitat use, roost selection and conservation of bats in Tsingy de Bemaraha National Park, Madagascar. *Biodivers. Conserv.* 16 : 1039–1053.
- Korine, C. and Z. Arad 1999. Changes in milk composition from early to peak lactation in the Egyptian fruit bat, *Rousettus aegyptiacus*. *J. Mammal.* 80 : 53–59.

- Lieberman, D., J.B. Hall and M. Lieberman. 1979. Seed dispersal by baboons in the Shai Hills, Ghana. *Ecology* 60 : 65–75.
- Long, E. and P.A. Racey. 2007. An exotic plantation crop as a keystone resource for an endemic megachiropteran, *Pteropus rufus*, in Madagascar. *J. Trop. Ecol.* 23 : 397–407.
- MacKinnon, J.L., C.E. Hawkins and P.A. Racey. 2003. Pteropodidae, fruit bats. In : (S.M. Goodman and J.P. Benstead, eds.) *The natural history of Madagascar*. The University of Chicago Press, Chicago, IL. pp. 1299–1302.
- McNab, B.K. 1969. The economics of temperature regulation in Neotropical bats. *Comp. Biochem. Physiol.* 31 : 227–268.
- Mutere, F.A. 1968. The breeding biology of the fruit bat *Rousettus aegyptiacus* Geoffroy living at 0°22'S. *Acta Trop.* 25 : 97–108.
- Naranjo, M.E., C. Rengifo, J. Pascual and P.J. Soriano. 2003. Effect of ingestion by bats and birds on seed germination of *Stenocereus griseus* and *Subpilocereus repandus* Cactaceae. *J. Trop. Ecol.* 19 : 19–25.
- Norberg, U.M. and J.M.V. Rayner. 1987. Ecological morphology and flight in bats Mammalia : Chiroptera wing adaptations, flight performance, foraging strategy and echolocation. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B* 316 : 337–419.
- Overdorff, D.J. and C.A. Hemingway. 1999. Sampling effects on food availability estimates : phenological method, sample size, and species composition. *Biotropica* 31 : 354–364.
- Picot, M.M., R.K.B. Jenkins, O.R. Ramilijaona, P.A. Racey and S.M. Carriere. 2007. The feeding ecology of *Eidolon dupreanum* (Pteropodidae) in eastern Madagascar. *Afr. J. Ecol.* 45 : 645–650.
- Racey, P.A. 1988. Reproductive assessment in bats. In : (T.H. Kunz, ed.) *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC. pp. 31–43.
- Racey, P.A. and A.C. Entwistle. 2000. Life-history and reproductive strategies of bats. In : (E.G. Crighton and P.H. Krutzsch, eds.) *Reproductive biology of bats*. Academic Press, New York. pp. 363–414.
- Racey, P.A., S.M. Goodman and R.K.B. Jenkins. 2010. The ecology and conservation of Malagasy bats. In : (T.H. Fleming and P.A. Racey, eds.) *Island bats. Ecology, evolution and conservation*. Chicago University Press, Chicago, IL. pp. 369–404.

- Raheriarisena, M. 2005. Régime alimentaire de *Pteropus rufus* (Chiroptera : Pteropodidae) dans la région sub-aride du sud de Madagascar. *Rev. Ecol.* 60 : 255–264.
- Randrianandriananina, F.H., D. Andriafidison, A.F. Kofoky, F.H. Ratrimomanarivo, P.A. Racey and R.K.B. Jenkins. 2006. Habitat use and conservation of bats in rainforest and adjacent human modified habitats in eastern Madagascar. *Acta Chiropt.* 8 :429–437.
- Ratrimomanarivo, F.H. 2007. Etude de régime alimentaire d'*Eidolon dupreanum*, Chiroptera : Pteropodidae, dans la région anthropisée des hautes terres du centre de Madagascar. *Rev. Ecol.* 62 :229–244.
- Reason, P.F., W.J. Trehwella, J.G. Davies and S. Wray. 1994. Some observations on the Comoro rousette *Rousettus obliviosus* on Anjouan, Comoro Islands : Western Indian Ocean. *Mammalia* 58 :397–403.
- Sewall, B.J., R. Gribel and W.J. Trehwella. 2003. The endemic Comoros Island fruit bat *Rousettus obliviosus* : ecology, conservation and red list status. *Oryx* 37 : 344–352.
- Singaravelan, N.A. and G. Marimuthu. 2004. Nectar feeding and pollen carrying from *Ceiba pentandra* by pteropodid bats. *J. Mammal.* 85 : 1–7.
- Tang, Z.H., A. Mukherjee, L.X. Sheng, M. Cao, B. Liang, R.T. Corlett and S.Y. Zhang. 2007. Effect of ingestion by two frugivorous bat species on the seed germination of *Ficus racemosa* and *F. hispida* Moraceae. *J. Trop. Ecol.* 23 : 125–127.
- Turk, R. 1995. A guide to trees of Ranomafana National Park and central eastern Madagascar. USAID, Antananarivo. 330 pp.
- Utzurum, R.C.B. and P.D. Heideman. 1991. Differential ingestion of viable vs nonviable *Ficus* seeds by fruit bats. *Biotropica* 23 :311–312.

CHAPITRE III : *Rousettus madagascariensis* (CHIROPTERA : PTEROPODIDAE) G. GRANDIDIER, 1928 PREFERS COMMERCIALLY UNIMPORTANT FRUITS.

Manuscript submitted to *Journal of Tropical Ecology*

Radosoa A. Andrianaivoarivelo, Richard K. B. Jenkins, Eric J. Petit, Christophe Rahaingonirina, Olga Ramilijaona†, Noromampiandra Razafindrakoto & Paul A. Racey

3.1. ABSTRACT

Flight cage choice experiments carried out over four months demonstrated that a Malagasy fruit bat, *Rousettus madagascariensis*, prefers native or introduced fruit of no commercial value (*Ficus polita*, *Syzygium jambos* and *S. malaccense*) to commercially important fruits (*Litchi chinensis* and *Diospyros kaki*). We presented ten fruit species to the bats : one native (*F. polita*) and the remainder introduced, three of which are commercially important. Most bats responded to fruit presented in a flight cage. Bats swallowed fruit juice and pulp and spat out the fibre of all fruit species provided except *L. chinensis* and *Eugenia jambolana* whose flesh was swallowed. Fruit mass was a more important determinant of selection by bats than its chemical composition. Feeding preference was manifest by large amounts of chewed pulp, repeated visits to the same fruits and more intensive feeding on large-sized fruit species. Although commercially important fruit such as *L. chinensis* and *D. kaki* tended to have higher fructose content than other species, our results indicate that lipid and calcium content are more important in fruit selection. We suggest that maintaining natural food availability in humid forests and providing alternative sources of fruit (e.g. *Syzygium* spp.) may contribute to limiting the damage that *R. madagascariensis* does to commercially important crops.

KEY WORDS : choice experiment, flight cage, fruit, Madagascar, preference, *Rousettus madagascariensis*.

Résumé

Les expériences réalisées dans la cage d'expérimentation (volière) pendant quatre mois ont montré que l'espèce, *Rousettus madagascariensis*, préfère les fruits indigènes ou ceux qui ont peu voire aucune valeur commerciale (*Ficus polita*, *Syzygium jambos* et *S. malaccense*) aux fruits commercialement importants (*Litchi chinensis* et *Diospyros kaki*). Nous avons présenté dix espèces de fruits aux chauves-souris : une espèce autochtone (*F. polita*) tandis que les restes sont des fruits introduits dont trois commercialement importants. La plupart des chauves-souris ont répondu aux fruits présentés dans la volière. Les chauves-souris ont avalé le jus et la pulpe des fruits et crachent les fibres sauf pour *L. chinensis* et *Eugenia jambolana* dont la chair est avalée. La masse de fruit constitue le facteur déterminant et le plus important affectant le choix des chauves-souris par rapport à sa composition chimique. La préférence alimentaire a été manifestée par de grande quantité de pulpe mâchée, des visites répétitives sur la même espèce de fruit et une alimentation plus intensive sur les grandes espèces de fruit. Bien que les fruits commercialement importants comme *L. chinensis* et *D. kaki* tendent à avoir une concentration en fructose supérieure à celles des autres espèces, nos résultats indiquent que le contenu en lipide et en calcium sont plus influents dans le choix des fruits. Nos résultats suggèrent que la disponibilité des nourritures ou fruits dans les forêts humides et autres formations végétales (par exemple les espèces de *Syzygium* spp.) peut contribuer à limiter les dommages causés par *R. madagascariensis* aux fruits commercialement importants.

3.2. INTRODUCTION

Feeding preference of fruit bats is greatly influenced by the nutritional quality of fruit (Bonnaccorso & Gush 1987) and its hardness (Dumont 1999; Dumont & O'Neil 2004). Though fruits are generally considered soft foods, they exhibit a wide range of textures (Strait & Overdorff 1996). Their relative hardness imposes selection pressures on bats to evolve solutions to the mechanical challenge of feeding on them. Some bat species have evolved unique cranio-dental morphological specializations, while others have developed behavioural adaptations (Dumont 2003). Nutritional value is also important in food choice. Wendel & Runkle (2000) found that small bats in Panama preferred *Ficus bullenei*, which had high levels of lipid and carbohydrates and low levels of lignin and tannin. Two possible reasons for eating a variety of fruit species are that : (1) a preferred species, able by itself to fulfil the bat's nutritional needs, may not always be available; or (2) no one fruit species is sufficient to meet the bat's nutritional needs. In addition to the fructose content and fruit mass influencing fruit choice, Fleming (1986) suggested that bats are also influenced by extrinsic factors, such as ambient light levels (related to the risk involved in flesh removal), the spatio-temporal abundance of the fruits, and intrinsic factors, such as the size of the animal, its reproductive status and social position. Moreover, the structure of the cones in the eye of *Rousettus madagascariensis* indicates that this species does not have colour vision (Müller *et al.* 2007); hence, fruit colour would not be among the factors that influence this species while foraging.

Bats that feed on native forest plants are affected by the loss, degradation and fragmentation of native forest habitat (Ochoa 2000; Pacheco *et al.* 2006; Jenkins *et al.* 2007). In response to the loss of native fruit species, fruit bats are likely to be attracted by introduced fruit species, some of which are often of commercial value. Charles-Dominique (1986) noticed that 90% of introduced pioneer plants in some tropical areas produce fruits eaten by bats and birds. Fruit bats disperse seeds of plants that produce green fruits externally located on the plant to favour their removal by flying animals (Charles-Dominique 1991). No study regarding this aspect has been conducted on the *R. madagascariensis*. Thus we investigated the feeding preferences of a small endemic Malagasy fruit bat, *R. madagascariensis*, in an experimental situation. We investigated inter-specific differences in the bats' feeding behaviour with different fruit species and determined whether they show a preference for commercially important fruit. We also measured the chemical composition of the fruits. Some Malagasy farmers consider *R.*

madagascariensis a pest because it eats cultivated fruits and we aimed to investigate whether it prefers these to native and commercially less important introduced fruits.

3.3. METHODS

3.3.1. Study site, bat capture and marking techniques

We conducted our study from January to April 2007, near the town of Anosibe An'Ala, Alaotra Mangoro Region (eastern Madagascar, S19°27', E48°12', 800 m above sea level). The remaining forest vegetation surrounding the town consists of Eastern Malagasy moist montane forest (Moat & Smith 2007), equivalent to the *Weinmannia* and *Tambourissa* series (Humbert & Cours Darne 1965). The climate in the study area has distinct wet and dry seasons and rainfall in this domain varies from a monthly peak of 500 mm in March to a minimum of 100 mm in October (Donque 1972).

Bats were captured with mist nets in banana (introduced *Musa paradisiaca*, Musaceae) (February and April), and litchi (introduced *Litchi chinensis*, Sapindaceae) plantations (January), and at a Fig tree (native *Ficus polita* Moraceae) in March. Bats were kept in a dark room with a dish of sugar water available during the remainder of the night of capture. Animals were then kept for about 24 hours, used in the experiment the following night, and immediately released at the site of capture.

The bats were weighed, measured and marked dorsally with different colour reflective tape (red, white, red-white, none) to allow individual recognition. Depending on the number of bats captured, two, three or four individuals were introduced into a flight cage (*ca* 4 x 2 x 2 m) constructed from dark polythene sheet, which prevented penetration by external light. They flew freely and hung from the top of the flight cage. We followed the techniques of several authors who have studied bats in temporary captivity to allow close range observation and better control of the experimental setting (Hernández-Conrique *et al.* 1996; Kalko & Condon 1998; Thies *et al.* 1998; Dumont 1999).

Before their release after the experiments, the bats' head fur was dyed (Balsam & Sagarin 1972) so that we could recognize them if recaptured during subsequent trapping sessions. *Rousettus* were abundant at the site and it was possible to introduce different individuals into the flight cage on successive nights.

3.3.2. Fruit species used during the flight cage experiment

Each fruit species used during the experiments were classified as either of relative high commercial importance or of no commercial importance, as well as whether or not the species was native to Madagascar. .

Ten fruit species were offered to the bats from January to April, according to the availability of fruits. Fruits of one native species (*Ficus polita*, Moraceae) were used in March and three commercially important species in January (*Litchi chinensis* and *Prunus cerasus*, Rosaceae) and March-April (*Diospyros kaki*, Ebenaceae). Other species which were of no commercial importance were used in January (*Syzygium jambos*, Myrtaceae and *Chrysophyllum imperiale*, Sapotaceae), February and March (*Eugenia jambolana* and *Psidium cattleianum*, Myrtaceae), March and April (*P. guajava*, Myrtaceae) and April (*S. malaccense*). These 10 species were selected for the experiments because they were available in the study site and *R. madagascariensis* was reported by local people to feed on *L. chinensis*, *D. kaki*, *E. jambolana*, *S. malaccense* and *P. guajava*. *Rousettus* also feed on ripe banana fruit in South-East Madagascar (Goodman 1999) but this was not offered to the bats because local growers gather the fruits before they ripen. The native Fig species (*F. polita*) is found in the Anosibe An'Ala town and grows near the river and sometimes in the adjacent villages. The three commercially important fruits are harvested for local and larger distant markets (e.g. Moramanga and Antananarivo) and provide important seasonal income for growers and transporters. However, other fruits such as *E. jambolana*, *P. guajava*, *P. cattleianum*, *S. jambos* and *S. malaccense* were occasionally eaten by the villagers in the Anosibe An'Ala market. Some fruit species were present and used during two consecutive months, such as *E. jambolana* and *P. cattleianum* (February and March), *D. kaki* and *P. guajava* (March and April) (Tableau 3.1).

3.3.3. Flight cage experimental protocol

The experimental protocol involved presenting up to 25 fruits of each species, depending on the number of bats in the cage; so that the number of fruits of each species for four bats was approximately double that for two bats. We used two to four bats in the flight cage during 27 sessions over four consecutive months. Bats were offered two to five ripe fruit species each month depending on fruiting phenology. Four fruit species were offered at the same time in January, two in February, five in March and three in April. Fruits were impaled on toothpicks or

spikes and hung from the roof of the cage, with a spacing of 15 cm, from five to seven horizontal nylon ropes (Figure 3.1). The bats were over supplied with fruits, so that they would exercise choice and not be solely motivated by hunger.

All fruits were collected from trees by ARA or CR and none was bought in the market. No fruits were collected from the ground. Only ripe fruits were presented to the bats, as judged by size, colour, softness, and in the case of Figs, absence of latex and exit holes made by wasps.

We observed bats for 90 min per experimental session inside the flight cage, which was illuminated with low lights (2 x 5 w). Two observers watched and recorded the data from holes (3 cm diameter) in the cage fabric.

We assessed the following five response variables to investigate the feeding preference of *R. madagascariensis* for native, commercially important or commercially unimportant fruits :

(I) the reaction time (in minutes) from the introduction of a bat into the flight cage to its first contact with a fruit;

(ii) the feeding duration (in minutes) of each individual on each fruit species (one or more fruits) within one experimental session in minutes;

(iii) the fruit flesh removal efficiency (g of fruit/g of bat) or the mass of chewed fruit per species per g of bat body mass. This required an estimate of the volume of fruit removed by the bats. Removed flesh was assessed visually and rated as a percentage of the total volume of the fruit after the bat's visit. The percentage volume (percent of the fruit volume removed after the bat visit) was then converted into grams using the mean mass of the fruit. This was divided by the mass of the individual bat to give the flesh removal efficiency;

(iv) the number of contacts with the same fruit species by the same individual bat;

(v) the number of chewed fruits per bat per species within one experimental session;

3.3.4. Analysis of Fruit

The fruit mass and fructose concentration of the pulp juice of 20 to 53 ripe fruits of each species were measured. The fruit pulp was squeezed to extract the juice and the fructose content measured in degrees brix (°Bx) using a refractometer (Trading Company, Jiang Su - Hong Kong) 0-32% (Frost & Frost 1981). Each degree Brix is equivalent to 1 g of fructose per 100 g of fruit juice (Roger *et al.* 1996). The fruits were weighed using an electronic balance with an accuracy of 0.05 g. Fruits were collected on the same day as the flight cage experiment and fruit mass and fructose content were measured prior to the flight cage experiment.

Additionally, 10 to 20 fruits per species were brought soon after harvesting to the CNRE (Centre National de Recherche pour l'Environnement, Antananarivo, Madagascar) laboratory and the following components were analysed : acid (MgH_2SO_4 /100 g), protein (g/100 g), lipid (g/100 g), calcium (mg/100 g), ash (%), moisture (g/100 g) and fruit mass.

3.3.5. Statistical analysis

Because of the significant and positive correlation between the number of contacts with the same fruit species and the number of chewed fruits ($R = 0.89$, $P < 0.001$), we analyzed only the former. The resulting four response variables were log transformed before we tested for the influence of fruit species and fruit categories (native, commercially important or not) upon them by means of linear models and F tests. In addition to these explanatory variables, we considered covariates that could have influenced bat preference such as months, number of bats, total number of fruits used, and the total number of fruits of the species chosen by the bat in the flight cage during the experiments. For each response variable, we built models that considered all variables (and their interactions) that had a significant effect on the response variable when taken individually (potentially including fruit species and all covariates). We also started with all variables and used Akaike's information criterion (AIC) to remove variables that did not improve model fit. The two procedures led to the same results. We then added to the final model the fruit categories as a nesting variable for fruit species. Because all fruits species were not available during all months (Tableau 3.1), we made these comparisons between fruit categories only for the months where two fruit categories were actually available. All models were finally visually checked by looking at residual distributions and QQ plots.

Fruits components such as acid, protein, lipid, calcium, ash, moisture, fructose and fruit masses were not incorporated into the modelling procedures because there was only a single measure per chemical component for each fruit species (the flesh of 20 fruit per species was mixed in the laboratory and the concentration of the chemical components measured). These data were used simply for the interpretation of the tendency we observed for each of the four response variables. All statistical analyses followed Crawley (2007).

3.4. RESULTS

3.4.1. Feeding observations and behaviours

The bats fed on eight fruit species (*L. chinensis*, *E. jambolana*, *P. cattleianum*, *P. guajava*, *S. jambos*, *S. malaccense*, *F. polita* and *D. kaki*) and refused two of them (*Chrysophyllum imperiale* and *Prunus cerasus*). The total duration of the observations was 42 hours, and involved 27 different experimental sessions. Seventy-nine of the 88 bats used in the feeding trials made contact with suspended fruits. A total of 992 fruits were offered to the bats and 298 of these were consumed. A maximum of 23% of the fruit provided per species was eaten by a bat during a single experiment (Figure 3.2).

When released into the flight cage all bats flew to a perch. The mean interval between the introduction of the bat to the cage and first contact to a fruit was 23 ± 22 min ($n = 91$). Subsequently, they approached a fruit in direct flight, sometimes rotating in the air to land head-down next to it. They fed on that fruit for 4.7 to 25.1 minutes (Tableau 3.1), then rested beside it or flew off. The bat ate part or all the fruit and on some occasions returned repeatedly to the same fruit (4.7 ± 2.40 contacts), depending on the species. Bats visited and chewed up to nine fruits within one experimental period. They held the fruit between the two forearms and patagia and the thorax and sometimes with the foot, then started to chew it. The fibres were spat out and the juice was swallowed for most fruit species, but the flesh of *L. chinensis* and *E. jambolana* was swallowed. The bat peeled the litchi pericarp before it started to feed on the white flesh. The feeding marks on the litchi pericarp were distinctive, and were caused by the incisors.

A small piece of fruit that may otherwise have dropped to the ground was held between the patagia and thorax and eaten first before larger pieces. The fruit was eaten from its distal end or from one side and the proximal part occasionally remained fixed to the cage. The bats approached fruits of *C. imperiale* but not *P. cerasus*. There were occasional attempts to feed on *C. imperiale*, but it was avoided after the first bite without removal of flesh.

A bat sometimes fed on consecutive fruit of the same or other species (1 to 6 fruits, Tableau 3.1). Occasionally, some individuals hovered and tried unsuccessfully to carry the fruit away.



Figure 3. 1 : Flight cage with *Rousettus madagascariensis* feeding on a *Ficus polita* fruit. (Photo by Radosoa A. Andrianaiivoarivelo.)

3.4.2. The response variables affecting the feeding preference among the bats :

Reaction time varied between fruit species (ANOVA, $df = 7$, $F = 4.4457$, $P < 0.001$) to the exclusion of all other variables. The reaction times were similar for the commercially important species (*L. chinensis*) and the species of no commercial value (*S. jambos*) available in January (ANOVA, $df = 1$, $F = 0.7036$, $P = 0.4090$). In contrast, the reaction time for the commercially important *D. kaki* was higher when compared to species with no commercial value, *E. jambolana*, *P. cattleianum* and *P. guyajava* in (Tableau 3.1, (ANOVA, March : $df = 1$, $F = 5.5360$, $P = 0.03$). During April, few data were obtained on bats feeding on commercially important species (*D. kaki*) because of few visits to the fruits ($n=3$) and could not be analysed with ANOVA. There was no difference in reaction times between native and non-native species (ANOVA, $df = 1$, $F = 0.51$, $P = 0.48$) in March when native species were available (Annexe 2a).

Feeding duration was affected only by fruit species (ANOVA, $df = 7$, $F = 7.84$, $P < 0.001$) and was higher for *S. jambos*, *F. polita* and *S. malaccense* than for other species (Annexe 2b)

Tableau 3. 1 : Descriptive statistics (mean \pm standard deviation and sample sizes) of the characteristics of different fruit presented to *Rousettus madagascariensis* in a flight cage. Each species is classed as either of commercial importance or not. Native species are marked with ‘*’.

Variables							
Economic importance	Fruiting months	Species (total number of bats feeding on the fruit species)	Mean reaction time (minute)	Feeding duration (minute)	Flesh removal efficiency (g fruit/g bat)	Number of fruits chewed per bat (range)	Number of contacts per individual bat
Important	January	<i>Litchi chinensis</i> (9)	17.2 \pm 15.0	7.2 \pm 4.6	0.1 \pm 0.1	0.9 \pm 1.5 (0-4)	2.4 \pm 2.1
	January	<i>Prunus cerasus</i> (0)	Not eaten	0	0	0	0
	March	<i>Diospyros kaki</i> (3 :	39.7 \pm 41	4.2 \pm 5	0.06 \pm 0.19	1.0 \pm 1.0 (0-2)	2.0 \pm 1.7
	April	March; 3 : April)	53.0 \pm 43.8	7.4 \pm 1.3	0.02 \pm 0.07	1.0 \pm 1.0 (0-1)	1.5 \pm 0.7
Not important	January	<i>Chrysophyllum imperiale</i> (0)	Not eaten	0	0	0	0
	March	<i>Ficus polita</i> * (23)	17.1 \pm 13.0	25.1 \pm 16.5	0.4 \pm 0.4	2.4 \pm 2.3 (1-6)	3.9 \pm 2.2
	February	<i>Eugenia jambolana</i>	34.2 \pm 16.4	10.3 \pm 4.0	0.1 \pm 0.1	3.4 \pm 0.5 (3-4)	4.0 \pm 0.9
	March	(9 : February; 6 : March)	36.3 \pm 32.3	18.0 \pm 14.4	0.05 \pm 0.05	2.9 \pm 1.7 (1-5)	3.1 \pm 2.1
	February	<i>Psidium cattleianum</i>	12.0 \pm 8.7	3.8 \pm 2.8	0.04 \pm 0.04	2.3 \pm 1.0 (1-4)	2.5 \pm 1.0
	March	(8 : February; 7 : March)	20.7 \pm 14.5	6.7 \pm 5.7	0.02 \pm 0.06	2.0 \pm 2.0 (1-6)	2.1 \pm 2.0
	March	<i>Psidium guajava</i>	69.0 \pm 31.2	4.0 \pm 1.0	0.1 \pm 0.4	1.5 \pm 0.7 (0-2)	1.5 \pm 0.7
	April	(3 : March; 7 : April)	31.6 \pm 45.7	4.9 \pm 6.0	0.2 \pm 0.4	1.1 \pm 0.3 (0-2)	2.1 \pm 2.0
	January	<i>Syzygium jambos</i> (22)	14.9 \pm 14.0	22.7 \pm 23.90	0.5 \pm 0.6	2.3 \pm 1.4 (1-5)	4.3 \pm 2.5
	April	<i>Syzygium malaccense</i> (20)	10.5 \pm 7.6	17.2 \pm 10.5	1.2 \pm 0.9	2.2 \pm 1.6 (1-5)	4.3 \pm 2.5

However, feeding duration was significantly different between commercially important fruits in January and March (January : *L. chinensis*, March : *D. kaki*) and species of no commercial value (January : *S. jambos*, March : *E. jambolana*, *P. cattleianum* and *P. guyajava*, *F. polita*) (ANOVA, January, $df = 1$, $F = 13.10$, $P = 0.0011$; ANOVA, March, $df = 1$, $F = 5.13$, $P = 0.030$). In contrast the feeding duration of these fruit categories was not significantly different in April (ANOVA, $df = 1$, $F = 0.029$, $P = 0.87$). The feeding duration for native species (*F. polita*) was significantly higher compared to that for non-native species (March, ANOVA, $df = 1$, $F = 18.27$, $P < 0.001$).

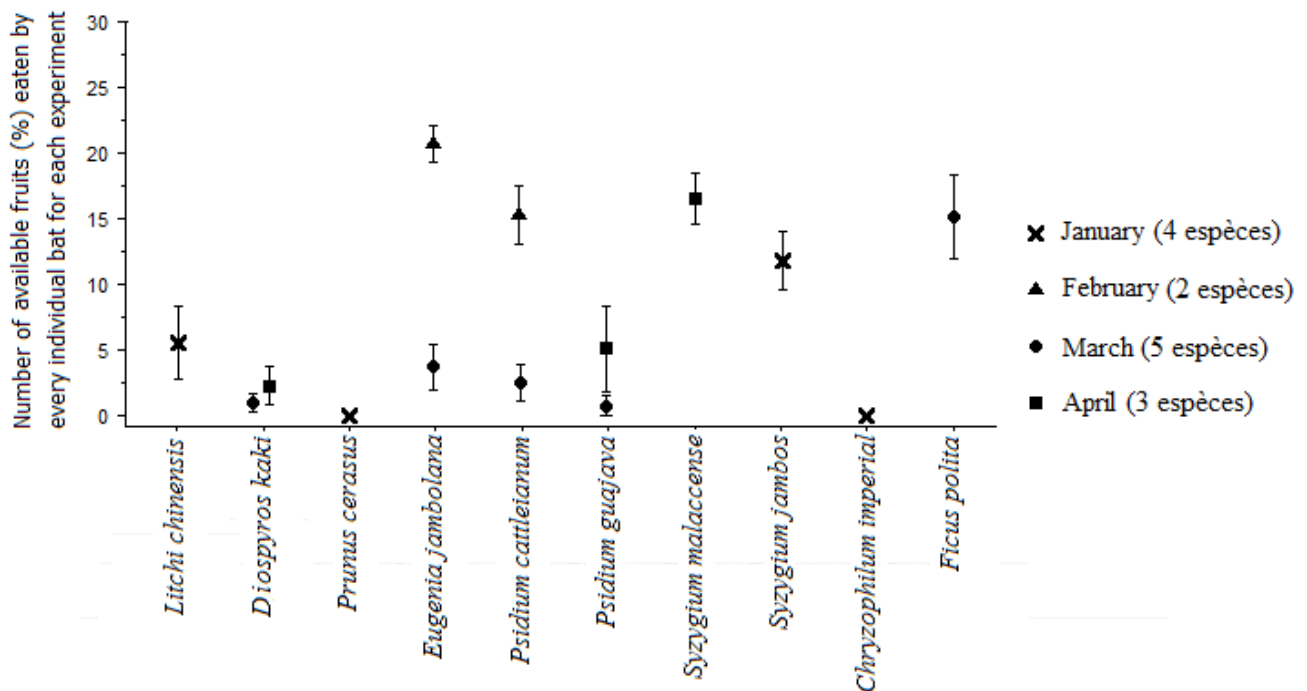


Figure 3. 2 : Mean number in percent of fruits eaten by an individual *Rousettus madagascariensis* in the cage. Bars represent the standard errors.

Flesh removal efficiency was affected only by the fruit species (ANOVA, $df = 7$, $F = 20.97$, $P < 0.001$) (Annexe 2). The flesh removal efficiency either in January or March did not differ between commercially important and unimportant species (ANOVA, January, $df = 1$, $F = 3.42$, $P = 0.075$, ANOVA, March, $df = 1$, $F = 0.81$, $P = 0.04$). Although, and significantly, the flesh removal efficiencies for commercially important (*D. kaki*) and unimportant species (*S. malaccense*) were different in April (ANOVA, $df = 1$, $F = 7.61$, $P = 0.01$), there was no difference in flesh removal between native and non-native species (ANOVA, $df = 1$, $F = 3.63$, $P = 0.07$), i.e. the amount of flesh removed for *F. polita* was similar to that for other non-native species (*E. jambolana*, *P. cattleianum* and *P. guyajava* and *D. kaki*) in March.

Models built with the number of contacts to the same fruit species led to residuals that were not normally distributed and whose variance increased with their value (Annexe 3, Number of contacts). However we found that bats came significantly more into contact with the preferred fruit species (ANOVA, $df = 6$, $F = 2.926$, $P = 0.011$).

3.4.3. Fruit characteristics and bat preference

The results for the five response variables compared with the six chemical component data (Tableau 3.2) suggested that the bats sought the lipid and calcium rich fruit species. They also preferred fruit with high moisture (Tableau 3.3), a characteristic of fruit of no commercial importance during the study. The relevance of the other chemical components in fruit selection

Tableau 3. 2 : Chemical components values and some fruit factors of the ten fruit species used during the flight cage experiments. Preferred fruits are in bold.

Species	Acid (MgH_2SO_4 /100g)	Protein (g/100g)	Lipid (g/100g)	Calcium (mg/100g)	Ash (g/100g)	Moisture (g/100g)	Fructose % (n)	Fruit mass (g)
<i>Litchi chinensis</i>	30.00	2.50	0.17	3.22	0.54	82.62	18.9±2.5 (201)	15.8±4.7 (106)
<i>Syzygium jambos</i>	26.20	1.90	2.17	22.60	0.43	81.07	13.4±1.2 (26)	22.1±5.88 (27)
<i>Chrysophyllum imperiale</i>	31.60	2.00	0.08	14.47	0.56	80.15	17.7±1.1 (21)	20.3±2.5 (21)
<i>Prunus cerasus</i>	29.40	2.20	0.20	42.11	0.47	85.65	13.7±1.5 (23)	4.7±0.9 (23)
<i>Eugenia jambolana</i>	1.71	8.05	0.17	13.30	0.43	83.67	13.3±2.3 (32)	3.0±1.0 (51)
<i>Psidium cattleianum</i>	1.53	1.75	0.74	51.19	0.80	80.10	12.7±1.5 (30)	6.6±3.0 (30)
<i>Psidium guajava</i>	2.10	1.31	0.52	11.46	0.52	81.65	7.2±1.8 (12)	72.1±25.7 (12)
<i>Ficus polita</i>	1.82	1.40	0.90	85.00	0.99	83.51	8.6±1.3 (34)	15.1±4.4 (34)
<i>Syzygium malaccense</i>	1.64	0.90	0.99	14.30	0.36	89.43	8.6±1.5 (51)	71.6±33.0 (51)
<i>Diospyros kaki</i>	1.72	1.40	0.22	16.46	0.50	92.68	16.6±2.2 (21)	72.0±18.0 (21)

(acid, fructose, protein) by *Rousettus madagascariensis* was equivocal. Although, fruits with higher fructose content received a similar number of contacts as those with lower fructose content, this is not statistically significant. The most important finding is that heavier fruit species tended to attract more bats than lighter fruits.

Tableau 3. 3 : Summary of the fruit species most preferred by *Rousettus madagascariensis* with the proportion of eaten fruits and the values for characteristics that have higher values than the other species.

Response variables	Preferred species	Fruit category	% eaten fruits	High value characteristics
Reaction time	<i>Ficus polita</i>	Native	76.13±23.27, n = 33	Calcium (85 mg/100 g), Lipid (0.90%)
	<i>Syzygium jambos</i>	Commercially not important	69.47±26.61, n = 22	Lipid (2.17%)
	<i>S. malaccense</i>	Commercially not important	33.06±15.21, N = 20	Fruit mass = 71.6 ± 33, or Moisture = 89.43%; Lipid = 0.99%
Feeding duration	<i>F. polita</i>	Native	76.13±23.27, n = 33	Calcium (85 mg/100 g), Lipid = 0.90%
	<i>S. malaccense</i>	Commercially not important	69.47±26.61, n = 22	Fruit mass (71.6 ± 33 g) (or Moisture 89.43%); Lipid (0.99%)
Flesh removal efficiency	<i>F. polita</i>	Native	76.13±23.27, n = 33	Calcium (85 mg/100 g), Lipid (0.90%)
	<i>S. malaccense</i>	Commercially not important	69.47±26.61, n = 22	Fruit mass (71.6 ± 33 g); Lipid (0.99%), Moisture = 89.43%
Number of contact per species per individual bat	<i>S. malaccense</i>	Commercially not important	69.47±26.61, n = 22	Fruit mass (71.6 ± 33 g) ; Lipid (0.99%)

3.5. DISCUSSION

3.5.1. Feeding preference

This is the first attempt at systematic analysis of the food preferences of *Rousettus madagascariensis* by choice experiments using native and introduced species, some of which are commercially important. We investigated the foraging decisions made by *R. madagascariensis* among fruits of different species, and revealed that this species does not prefer commercially important fruit when other fruit species (native or not commercially important) are available.

Our results suggest that *R. madagascariensis* prefers species with heavy fruits and those rich in lipid and calcium (Tableau 3.2). Frugivores select fruits based on size, phenology, and

nutritional quality (Howe & Estabrook 1977; Thomas 1984). A bat fares better energetically by taking a few large fruits than by selecting more small fruits, which would involve more commuting and approach flights for a similar nutritional reward (Kalko *et al.* 1996). *Syzygium malaccense*, *S. jambos* and *Ficus polita*, which were the heaviest fruits used during the experiments were also eaten the most. Apart from the fruit choice criterion of size, Sanchez *et al.* (2006) found that frugivorous bats from the Old and New World use odour cues to locate and assess fruit condition. They hypothesized that *R. aegyptiacus* used volatile compounds as odour cues, and that their emission rate increased as fruit ripens.

The commercially important species contained higher fructose concentrations compared to other fruit categories (Tableau 3.2), suggesting that the choice of fruit species by the bats was not driven by this variable. However, Baker *et al.* (1998) and Ogunbuyi & Okon (1976) demonstrated that the enzyme sucrase was present in sufficient concentration in the gut of fruit bats to suggest that nectar and fruit juices containing fructose could be digested easily by these bats.

Mattson (1980) described fruits as “nutrient-poor” - those providing energy from carbohydrates but with relatively less than 0.5 percent protein, and “nutrient-rich” - those with higher protein (6–7% fresh weight) and lipid content. Obligate frugivores should feed on high protein fruits whereas facultative frugivores can eat poor quality fruits, which they supplement with insects, seeds, and leaves (Kunz & Diaz 1995). The laboratory analyses of fruit components (Tableau 3.2) showed that the fruit species preferred by the bats were also rich in lipid. There seemed to be preference for calcium rich fruits in January (*S. jambos* compared to *L. chinensis*) and March (*F. polita* compared to *D. kaki*).

Because many fruits consumed by bats are high in carbohydrates and low in protein, Thomas (1984) suggested that plant-visiting bats over-ingest fruits to meet their protein requirements and dump carbohydrates. Conversely, if plant-visiting bats supplement their fruit diet with protein-rich food (Zortea & Mendes 1993), they do not need to over-ingest carbohydrate-rich fruits, which may explain the high preference of *R. madagascariensis* for *F. polita* in March. However, Korine *et al.* (1996) determined the digestible nitrogen requirements for free-ranging *R. aegyptiacus* (134 mg N/kg/day), and concluded that energy (carbohydrate and lipid) rather than nitrogen was the limiting factor in this species. Subsequently, Delorme & Thomas (1999) evaluated the nitrogen and energy requirements of captive *R. aegyptiacus* and concluded that this species may be specialized for the retention of nitrogen, especially when

foods available have low nitrogen availability. The maintenance nitrogen requirement of *R. aegyptiacus* is much lower than that reported for other fruit bat species (Korine *et al.* 1996) and the bats may be constrained by the low protein diet of fruits which has resulted in a long lactation period, similar to that observed in large mammals (Korine *et al.* 2004).

According to O'Brien *et al.* (1998), given the high concentration of calcium in *Ficus* fruits, it is not surprising that they are preferred as food by many plant-visiting bats (Morrison 1978), including *Cynopterus sphinx* and *C. brachyotis* in Asia (Bhat 1994). Fourteen of 17 Fig species found on Barro Colorado Island in Panama are eaten regularly by bats (Kalko *et al.* 1996). Wendeln & Runkle (2000) found that Figs might be able to sustain some frugivores without additional food. The Fig lipid concentrations (Wendeln & Runkle 2000) were higher than for some other tropical fruits, and Morrison (1980) found that protein made up 4.8% (dry weight) of the Fig juice. Figs are a source of calcium, which is critical for successful reproduction in both wild and domesticated mammals (Sadler 1969), and is a limiting nutrient for milk production (Kunz *et al.* 1995). The availability of *F. polita* and the preference for this species coincided with captures of lactating female *R. madagascariensis* in our study area during March. The refusal to feeding on the *Prinus cerasius* species is unclear.

Extraction efficiency varies depending on the nutrient being considered, ranging from 50.0% to 63.8% for organic nutrients and from 0 to 35.7% for macrominerals (Ruby *et al.* 2000). Fruit bats in the wild appear to meet their nutrient needs by consuming large quantities of a mixture of native fruits, with some consumption of flower parts, pollen, leaves, and insects (Zortea & Mendez 1993; Courts 1996; Ange *et al.* 2001; Long & Racey 2007).

3.5.2. Conservation management of bats

Recently, Singaravelan *et al.* (2009) called for the majority of fruit bats in India to be removed from national vermin lists because they are forest dwellers and there is no evidence that they feed on commercially important fruits. Although the fruit bats of Madagascar do feed on such fruits, the present study provides evidence that their preference lays elsewhere. The damage caused by *Pteropus niger* to litchis in Mauritius (Jenkins & Tatayah 2009) is likely be the result of a decrease in native vegetation and the poor reproductive success of native plant species (Lorence & Sussman 1986) on which the bats feed.

Conserving and managing plants used as food by frugivorous bats is important in maintaining populations of frugivorous bats and ensuring plant species dispersal. The present

study found, in addition to feeding on native species (*Ficus polita*) the bats consumed several introduced plant species (*Syzygium jambos*, *S. malaccense* and *Psidium cattleianum*) and fed less on commercially important crop species. In the Neotropics, some bat species are favoured by increases in secondary forest areas (Lopez & Vaughan 2007). Our results suggest that maintaining natural food supplies in humid forests and providing alternative sources of fruit (e.g. *Syzygium* spp.) may contribute to limiting the damage that *R. madagascariensis* causes to commercially important crops.

3.6. ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Steven M. Goodman for valuable comments on the manuscript, Sylvestre Raharimbola and Tefindrazana for assistance with fieldwork in Anosibe An'Ala, Daniel Rakotondravony, the former Head of the Animal Biology Department at the University of Antananarivo and the Ministry of Environment, Forest and Tourism for permission to work at the Anosibe An'Ala District. Marcel Rakotoarinosy, Chef de District of Anosibe An'Ala provided us the accommodation and place for the flight cage experiment. The study was financed by the Darwin Initiative, Disney Wildlife Conservation Fund and the International Foundation for Science.

3.7. LITERATURE CITED

- ANGE, K. D., RHODES S. & CRISSEY, S. D. 2001. Browse consumption and preference in the Rodriguez fruit bat (*Pteropus rodricensis*). *AAZK Animal Keepers' Forum* 28 : 475-482.
- BAKER, H. G., BAKER, I. & HODGES, S. A. 1998. Sugar composition of nectars and fruits consumed by birds and bats in the tropics and subtropics. *Biotropica* 30 : 559-586.
- BALSAM, M.S. & SAGARIN, E. 1972. *Cosmetics science and technology*. John Wiley & Sons. Baltimore, New York, 605.
- BHAT, H. R. 1994. Observation on the food regime and feeding behavior of *Cynopterus sphinx* Vahl (Chiroptera, Pteropodidae) at Pune, India. *Mammalia* 58 : 363-370.
- CHARLES-DOMINIQUE, P. 1986. Interrelations between frugivorous vertebrates and introduced pioneer plants : *Cecropia*, birds and bats in French Guyana. Pp. 119-135 in Estrada A. & Fleming T. (eds.). *Frugivores and seed dispersal*. Dordrecht. W. Junk Publishers, The Netherlands. 392 pp.

- CHARLES-DOMINIQUE, P. 1991. Feeding strategy and activity budget of the frugivorous bat *Carollia perspicillata* (Chiroptera : Phyllostomidae) in French Guiana. *Journal of Tropical Ecology* 7 : 243-256.
- COURTS, S. E. 1996. Insectivory in captive Livingstone's and Rodrigues fruit bats *Pteropus livingstonii* and *Pteropus rodricensis* (Chiroptera : Pteropodidae) : A behavioural adaptation for obtaining dietary protein. *Journal of Zoology* (London) 242 : 404-410.
- CRAWLEY, M. J., 2007. *The R Book*. Imperial College London at Silwood Park, UK. John Wiley & Sons, Ltd. Pp. 942.
- DELMORE, M. & THOMAS, D. W. 1999. Comparative analysis of the digestive efficiency and nitrogen and energy requirement of the phyllostomid fruit bats (*Artibeus jamaicensis*) and the pteropodid fruit bat (*Rousettus aegyptiacus*). *Journal of Comparative Physiology* 169 : 123-132.
- DONQUE, G. 1972. The climatology of Madagascar. Pp. 87-144 in Battistini, R. & Richard, G. (eds.). *Biogeography and ecology of Madagascar*. Vindard, The Hague : W. Junk.
- DUMONT, E. R. 1999. The effect of food hardness on feeding behaviour in frugivorous bats (Phyllostomidae) : An experimental study. *Journal of Zoology* (London) 248 : 219-229.
- DUMONT, E. R. 2003. Bats and fruit : An ecomorphological approach. Pp. 398-429 in Kunz T. H., Fenton B. (eds). *Bat Ecology*, University of Chicago Press. 798pp.
- DUMONT, E. R. & O'NEIL, R. 2004. Food hardness and feeding behaviour in Old World fruit bats (Pteropodidae). *Journal of Mammalogy* 85 : 110-116.
- FLEMING, T. H. 1986. Opportunism vs. specialization : The evolution of feeding strategies in frugivorous bats. Pp. 105-118 in Estrada A. & Fleming T. H. (eds). *Frugivores and seed dispersal*. Dordrecht. W. Junk Publishers, The Netherlands. 392 pp.
- FROST, S. K. & FROST, P. G. H. 1981. Sunbird pollination of *Strelizia nicolai*. *Oecologia* 49 : 379-384.
- GOODMAN, S. M. 1999. Notes on the bats of the Réserve Intégrale d'Andohahela and surrounding areas of southeastern Madagascar. *Fieldiana : Zoology*, new series 94 : 251-257.
- HERNÁNDEZ-CONRIQUE, D. IÑIQUEZ-DÁVALOS L. I. & STORZ J. F. 1996. Selective feeding by phyllostomid fruit bats in a subtropical montane cloud forest. *Biotropica* 29 : 376-379.
- HOWE, H. F. & ESTABROOK, G. F. 1977. On interspecific competition in avian dispersers in tropical trees. *American Naturalist* 111 : 817-832.

- HUMBERT, H. & COURS DARNE 1965. Carte international du tapis vegetal et des conditions écologiques. 3 coupures à 1/1.000.000 de Madagascar. Travaux de la section Scientifique Et Technique de l'Institut Français de Pondichéry, hors série No 6, 3 maps.
- JENKINS, R. K. B., ANDRIAFIDISON, D., RAZAFIMANAHAKA, J. H., RABEARIVELO, A., RAZAFINDRAKOTO, N., ANDRIANANDRASANA, R. H., RAZAFIMAHATRATRA, E. & RACEY, P. A. 2007. Not rare, but threatened : the Madagascar Flying Fox *Pteropus rufus* in a fragmented landscape. *Oryx* 41 : 263–267.
- JENKINS, R. K. B. & TATAYAH V. 2009. Flying foxes (Pteropodidae : *Pteropus*) in the western Indian Ocean : A new regional initiative. *African Bat Conservation News* 21 : 2-3.
- KALKO, E. K. V. & CONDON, M. A. 1998. Echolocation, olfaction and fruit display : How bats find fruit of flagellichorous cucurbits. *Functional Ecology* 12 : 364–372.
- KALKO, E. K. V., HANDLEY, C. O. & HANDLEY D. 1996. Structure, diversity, and long-term dynamics of a Neotropical bat community. Pp. 503–553 in M. L. Cody and J. A. Smallwood (Eds.). *Long-term studies of vertebrate communities*. Academic Press, New York, New York. 585pp.
- KORINE, C., ARAD, Z. & ARIELI, A. 1996. Nitrogen and energy balance of the fruit bat, *Rousettus aegyptiacus* on natural fruit diet. *Physiological Zoology* 69 : 618-634.
- KORINE, C., SPEAKMAN, J. & ARAD, Z. 2004. Reproductive energetics of captive and free-ranging Egyptian fruit bats (*Rousettus aegyptiacus*). *Ecology* 85 : 220–230.
- KUNZ, T. H., OFTEDAL, O. T., ROBSON, S. R., KRETZMANN & KIRK, C. 1995. Changes in milk composition during lactation in three species of insectivorous bats. *Journal of Comparative Physiology B* 164 : 545-551.
- KUNZ, T. H. & DIAZ, C. A. 1995. Folivory in fruit-eating bats, with new evidence from *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera : Phyllostomidae). *Biotropica* 27 : 106–120.
- LONG, E. & RACEY, P. A. 2007. An exotic plantation crop as a keystone resource for an endemic megachiropteran, *Pteropus rufus*, in Madagascar. *Journal of Tropical Ecology* 23 : 397-407
- LOPEZ, J. E. & VAUGHAN, C. 2007. Food niche overlap among Neotropical frugivorous bats in Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 55 : 301-313.
- LORENCE, D.H. & SUSSMAN, R.W. 1986. Exotic species invasion into Mauritius wet forest remnants. *Journal of Tropical Ecology* 2 : 147-162.
- MATTSON, W. J. 1980. Herbivory in relation to nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11 : 119–161.

- MOAT, J. & SMITH, P. 2007. *Atlas of the vegetation of Madagascar*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- MORRISON, D. W. 1978. Foraging ecology and energetics of frugivorous bat *Artibeus jamaicensis*. *Ecology* 59 : 716-723.
- MÜLLER, B., GOODMAN, S. M. & PEICHL, L. 2007. Cone photoreceptor diversity in the retinas of fruit bats (Megachiroptera). *Brain, Behavior and Evolution* 70 : 90-104.
- O'BRIEN, T. G., KINNARD, M. F., DIERENFELD, E. S., CONKLIN, N. L., WRANGHAM, R. W. & SILVER, S. C. 1998. What's so special about Figs? *Nature* 292 : 668.
- OCHOA, G. J. 2000. Effects of selective logging on the diversity of small mammals in the lowland forests of the Venezuelan Guyana region. *Biotropica* 32 : 146-164.
- OGUNBUYI, O. A. & OKON, E. E. 1976. Studies on the digestive enzymes of the African fruit bats *Eidolon helvum* (Kerr). *Comparative Biochemistry and Physiology* 55A : 359-361.
- PACHECO, J., CEBALLOS, G., DAILY, G. C., EHRLICH, P. R., SUZÁN, G., RODRÍGUEZ-HERRERA, B. & MARCÉ, E. 2006. Diversidad, historia natural y conservación de los mamíferos de San Vito de Coto Brus, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 54 : 219-240.
- ROGER B., SINGLETON, V., BISSON, L. & KUNKEE, R. 1996. *Principles and practices of winemaking*. New York. 604 pp.
- RUBY, J. NATHAN, P. T., BALASINGH, J. & KUNZ, T. H. 2000. Chemical composition of fruits and leaves eaten by short-nosed fruit bat, *Cynopterus sphinx*. *Journal of Chemical Ecology* 26 : 2825-2841.
- SADLER, R. M. F. S. 1969. *The ecology of reproduction in wild and domestic mammals*. Methuen and Co., Ltd., London. 321 pp.
- SANCHEZ, F., KORINE, C., STEEGHS, M., LAARHOVEN, L. J., CRISTESCU, S. M., HARREN, F. J. M., DUDLEY, R. & PINSHOW, B. 2006. Ethanol and methanol as possible odor cues for Egyptian fruit bats (*Rousettus aegyptiacus*). *Journal of Chemical Ecology* 32 : 1289-1300.
- SINGARAVELAN, N., MARIMUTHU, G. & RACEY, P. A. 2009. Do fruit bats deserve to be listed as vermin in the Indian Wildlife (Protection) & Amended Acts? A critical review. *Oryx* 43 : 608–613.
- STRAIT, S. G. & OVERDORFF, D. J. 1996. Physical proprieties of fruits eaten by Malagasy primates. *American Journal of Physical Anthropology, Supplement* 22 : 224.
- THIES, W., KALKO, E. K. V. & SCHNITZLER, H. U. 1998. The roles of echolocation and olfaction in two Neotropical fruit-eating bats, *Carollia perspicillata* and *C. castanea*, feeding on piper. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 42 : 397–409.

- THOMAS, D. W. 1984. Fruit intake and energy budgets of frugivorous bats. *Physiological Zoology* 45 : 457-467.
- WENDELN, M. C. & RUNKLE, J. R. 2000. Nutritional values of 14 Fig species and bat feeding preferences in Panama. *Biotropica* 32 : 489–501.
- ZORTEA, M. & MENDES, S. L. 1993. Folivory in the big fruit-eating bat, *Artibeus lituratus* (Chiroptera : Phyllostomidae) in Eastern Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 9 : 117-120.

CHAPITRE IV : ALIMENTATION ET DISPERSION DE GRAINES CHEZ *Rousettus madagascariensis* G. GRANDIDIER, 1928, DANS LE NORD-UEST DE MADAGASCAR

Publication sous presse : *La Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*

Andoniaina R. Andrianaivoarivelo, Eric J. Petit, Noromampandra Razafindrakoto & Paul A. Racey

4.1. RESUME

Des expériences dans une volière ou cage d'expérimentation et des observations dans la nature à proximité des arbres ont été réalisées dans la région Nord-ouest de Madagascar pour étudier le choix de *Rousettus madagascariensis* (famille des Pteropodidae) entre une espèce de fruit introduite le jujubier (*Ziziphus jujuba*, famille des Rhamnaceae) et une espèce de Figuier endémique (*Ficus sakalavarum*, famille des Moraceae) au cours de la saison sèche. L'aspect quantitatif de la dissémination des graines de cette dernière a également été étudié. Cette étude a été menée entre mai et juin 2009. *Rousettus madagascariensis* utilise les deux espèces, mais la préférence entre les deux fruits varie en fonction de l'âge de l'animal. Les jeunes chauves-souris ont une préférence pour *F. sakalavarum* tandis que les adultes mangent aussi les jujubes qui ne sont généralement pas très mûrs et même si leur graine est trop volumineuse pour être avalée. Nous suggérons que cet animal n'assure pas la dissémination des graines de *Z. jujuba*. La dissémination des graines par cette espèce pourrait être moins favorable par rapport aux autres animaux qui avalent les graines. Presque la moitié des graines de *F. sakalavarum* a été trouvée dans les fèces de *R. madagascariensis* laissés pendant la nuit dans la volière, le reste a été craché sous forme de pelotes de régurgitation. *Rousettus madagascariensis* participe activement à la dissémination des graines de *F. sakalavarum* plus particulièrement celles de pieds isolés ou se trouvant dans des fragments d'habitats restreints où les autres animaux disséminateurs sont rares ou absents.

SUMMARY

Experiments in a flight cage and observations in the field were carried out in north-western Madagascar to study the feeding preference of *Rousettus madagascariensis* (Family Pteropodidae) between an introduced fruit, jujube (*Ziziphus jujuba*, Family Rhamnaceae) and an endemic Fig (*Ficus sakalavarum*, Family Moraceae) during the dry season, in May and June 2009. We also investigated quantitative aspects of seed dispersion by *R. madagascariensis*. Juvenile bats (13) fed intensively on *F. sakalavarum*, while adults (20) ate both fruit species but with a pronounced preference for unripe *Z. jujuba* fruits. This preference for unripe (immature) fruit, the seeds of which are too large to swallow, suggested that *R. madagascariensis* does not affect seed dispersal in *Z. jujuba*. Almost half of the ingested seeds of *F. sakalavarum* were found in faeces of *R. madagascariensis* voided during the night in the flight cage, and the remainder was found in regurgitated ‘ejecta’ pellets. *Rousettus madagascariensis* is thought to be an effective seed disperser of *F. sakalavarum*, particularly for isolated trees or those in forest fragments where other frugivores are rare.

MOTS CLÉS

Rousettus madagascariensis, *Ziziphus jujuba*, *Ficus sakalavarum*, dissémination, Anjohibe

4.2. INTRODUCTION

La plupart des recherches sur l'écologie alimentaire de la famille des Pteropodidae à Madagascar, sauf celles d'Andriafidison *et al.* (2006), ont été réalisées entièrement à l'Est, Sud-est et Centre de Madagascar (Raheriarisena, 2005 ; Long & Racey, 2007 ; Picot *et al.* 2007 ; Ratrimomanarivo, 2007). Ces études concernent l'efficacité de la germination des graines de *Ficus* spp. (famille des Moraceae) après leur passage dans les tubes digestifs des Pteropodidae malgaches, mais aucune étude quantitative sur les graines avalées et déposées dans la nature n'a été menée. Les recherches menées dans le Sud-est (Raheriarisena, 2005 ; Bollen & Van Elsaker, 2002), les Hautes Terres centrales (Ratrimomanarivo, 2007) et l'Est de Madagascar (Picot *et al.*, 2007) ont montré que les chauves-souris frugivores de Madagascar participent à la dissémination des graines et à la pollinisation des espèces de plantes endémiques et non-endémiques de l'Ile.

Une meilleure connaissance des besoins alimentaires en relation avec les ressources disponibles et l'utilisation de ces ressources est importante car le changement ou l'adaptation du régime alimentaire des chauves-souris frugivores de l'Ouest de Madagascar peut être affecté par la composition floristique de la région. Parmi les caractéristiques comportementales des chauves-souris frugivores qui déterminent les modèles de dissémination des graines Figurent les patrons de déplacements au cours de leur alimentation, et/ou la durée du passage des graines dans le tube digestif (Godinez-Alvarez & Valiente-Banuet, 2000). En effet, le déclin de la population d'une espèce frugivore peut potentiellement affecter la distribution et la biologie de la reproduction des plantes forestières qui sont principalement dépendantes des frugivores pour leur dispersion dans la nature.

Nous avons concentré notre étude sur le comportement alimentaire de *Rousettus madagascariensis* face aux espèces *Ziziphus jujuba* (famille des Rhamnaceae), qui est une plante introduite à Madagascar (Humbert, 1950) et *Ficus sakalavarum*, une espèce endémique de l'Ouest de Madagascar. Par rapport aux autres espèces ces deux espèces fructifient abondamment en période sèche au Nord-ouest de Madagascar. Cette étude porte plus particulièrement sur l'importance de *Z. jujuba* dans l'alimentation de cette espèce durant la saison sèche au cours de laquelle les fruits sont rares. *Ziziphus jujuba* est extrêmement répandue dans tout l'Ouest de Madagascar. On la trouve dans des formations secondaires, où elle forme parfois des peuplements purs ou presque (Capuron, 1965).

Nous avons étudié la préférence entre plantes autochtones endémiques (*F. sakalavarum*) et introduites (*Z. jujuba*) et examiné l'exploitation et l'utilisation de ces ressources par *R.*

madagascariensis. Les deux plantes fructifient pendant la saison sèche et nous supposons que les éléments nutritifs des fruits ne seraient pas les seuls facteurs qui stimulent les frugivores à choisir les fruits. Deux autres facteurs sont visiblement considérés. Le type de fruit est différent chez les deux espèces : Pour *Z. jujuba*, le fruit est une drupe avec une seule graine tandis que *F. sakalavarum* possède plusieurs graines minuscules par fruit. L'autre facteur concerne le mode de fructification. Les fruits murs de *F. sakalavarum* restent toujours sur la branche tandis que les fruits murs et tendres de *Z. jujuba* tombent (Vashishtha *et al.*, 1989) ce qui nous amène à supposer que *R. madagascariensis* ne ramasse pas les fruits mûrs au sol mais opte plutôt pour les fruits immatures encore pendus aux branches. Cette espèce, endémique de l'île, est la plus petite des chauves-souris frugivores de Madagascar. Elle pèse entre 50 et 80 g avec une longueur totale de 11,5 à 14,4 cm, et un avant bras de 6,5 à 7,5 cm (MacKinnon *et al.*, 2003).

Etant donné la large distribution de *Z. jujuba* le long des côtes Nord et Ouest malgaches, *R. madagascariensis*, si elle se nourrit de *Z. jujuba*, pourrait être une des espèces animales disséminatrices des graines de cette plante, d'autant plus que les pieds de *Z. jujuba* sont isolés les uns des autres ou forment des groupements isolés difficilement accessibles pour les autres groupes d'animaux frugivores forestiers comme les lémuriens et les oiseaux sensibles à la prédation. De ce fait, la dissémination de cette espèce est assurée par des frugivores spécifiques capables de se déplacer sur de longues distances.

Cette étude a pour objectifs :

- i) de connaître la préférence de *R. madagascariensis* entre une espèce autochtone (*F. sakalavarum*) et une espèce introduite (*Z. jujuba*) et la consommation de *Z. jujuba* dans la nature ;
- ii) de déterminer l'influence de la taille et du stade de maturation des fruits de *Z. jujuba* sur le choix alimentaire d'individus de *R. madagascariensis* d'âge et de sexe différents ;
- iii) d'estimer quantitativement la masse de fruits mastiqués par *R. madagascariensis* par nuit ;
- iv) d'étudier quantitativement la potentialité de *R. madagascariensis* sur la dissémination des graines de *F. sakalavarum*.

4.3. MATERIELS ET METHODES

4.3.1. Site d'étude

Cette étude a été menée pendant la saison sèche dans la partie Nord-ouest de Madagascar, à Anjohibe dans la Commune de Mariarano, District de Mahajanga II (E46.86954° S15.57602°) du 07 V au 11 VI 2009. La végétation dominante est composée de savane à *Bismarckia nobilis* (famille des Arecaceae) et à *Ziziphus jujuba*, de fragments de forêt dense sèche dégradée et de forêt galerie. Le site comprend aussi des aires défrichées consacrées à l'agriculture, notamment le riz et le manioc. La savane associée au *Bismarckia* est typique de la région de Mahajanga car elle y existait bien avant l'arrivée de l'homme (Burney *et al.*, 2004).

Anjohibe fait partie du massif karstique de Narinda qui s'est développé sur un plateau de roches gréseuses et de dolostone de l'Eocène entre 50 m et 200 m au-dessus de la mer (Decary, 1934). La grotte d'Anjohibe abrite un gîte de *Rousettus madagascariensis* composé d'au moins 600 individus (estimation par extrapolation au cours de notre visite en 2009).

La région d'Anjohibe a un climat typique des savanes tropicales, la pluviométrie annuelle est de 500 à 1500 mm et la moyenne des températures est de 25° à 26°C (Centre météorologique de Mahajanga ; Wells & Andriamihaja, 1993). Les pluies sont hautement saisonnières : 97.6% tombent entre novembre et avril (Brook *et al.*, 1999).

4.3.2. Les espèces de fruits utilisés

Le jujubier ou *Ziziphus jujuba* est un arbuste buissonnant de 6 à 9 m de haut, s'adaptant facilement à la salinité des sols, aux excès d'eau et à la sécheresse (Vashishtha *et al.*, 1989). Originaire d'Asie, particulièrement des Sub-tropiques et Tropiques chauds (Azam-Ali, 2006), la plante se retrouve dans les plaines du versant Occidental de Madagascar, surtout sur les terrains arénacés ou calcaires (Capuron, 1965) de Madagascar. Les fruits sont comestibles, disséminés abondamment par la population humaine, les potamochères et les oiseaux (Humbert, 1950).

Berg (1986) considère *Ficus sakalavarum* comme une sous-espèce de *F. sycomorus*. Cependant, des recherches récentes (e.g. Berg, 1990) ont montré que *F. sakalavarum* devrait être considérée comme une espèce valide endémique de Madagascar, les deux espèces étant pollinisées par des espèces différentes de guêpes (Famille des Agaonidae ; Berg, 1986). En outre, elles sont attaquées par différents types de guêpes non-pollinisatrices de Figue et sont

fréquemment synoptiques. Morphologiquement, elles peuvent être différenciées par la dimension des Figes et des feuilles (Dalecky *et al.*, 2003).

L'aire de distribution de *F. sakalavarum* se trouve aussi à l'Ouest de Madagascar (Berg, 1986). Elle pousse fréquemment le long des cours d'eau, mais peut également être trouvée dans les sols humides, à basse altitude (www.Figweb.org). Les fruits se trouvent au niveau des axilles des feuilles ou juste en-dessous de la feuille, parfois sur le tronc ou les petites branches courtes. Le diamètre de la Figue fraîche peut atteindre jusqu'à 9 cm (Berg, 1986).

4.3.3. Catégorisation des fruits et mesure du taux de sucre de la pulpe

Rousettus madagascariensis préfère les espèces de fruits de grande taille (Chapitre III), et cette étude va chercher à démontrer si ceci est encore valable pour les fruits d'une même espèce mais de différentes tailles. Dans ce but, nous avons pris arbitrairement comme point de séparation entre les deux catégories de taille (gros ou petits fruits) la médiane de la longueur de fruits qui est de 21 mm. Afin d'étudier la préférence alimentaire suivant la taille et le stade de maturité des fruits, nous avons classé les fruits de *Ziziphus jujuba* en quatre catégories : (1) les fruits immatures sont ceux encore verts-jaunes et durs de grande taille (supérieur à 21 mm de longueur) ; (2) les fruits immatures de petite taille (11 à 21 mm de longueur) ; (3) les fruits mûrs ou fruits bruns plus ou moins tendres ou quelque fois jaunes de grande taille (supérieur à 21 mm de longueur) ; et (4) les fruits mûrs de petite taille (11 à 21 mm de longueur).

La pulpe des fruits a été pressée pour en extraire le jus. Le taux de sucre contenu dans le jus est mesuré en degré Brix (°Bx) en utilisant un réfractomètre 0-32% (Frost & Frost, 1981). Chaque degré Brix équivaut à un gramme de sucre par 100 grammes de jus de fruit (Roger *et al.*, 1996). Le poids, la taille (des deux espèces), le nombre de graines par fruit (chez les *Ficus sakalavarum*) ainsi que le taux de sucre d'une trentaine de fruits par espèce ont servi d'échantillonnage pour caractériser les variables des fruits utilisés.

4.3.4. Expérience dans la volière

La volière a été construite près de notre campement (Mahafanina coordonnées GPS : E46.86954° S15.57602°). Elle a une dimension de 2 m X 4 m X 2 m. Le mur est fait d'une épaisse bâche de couleur sombre avec une ouverture sur un côté qui a permis l'introduction des fruits et de l'animal. S'agissant d'une expérience nocturne, deux lampes de faible intensité ont été mises à l'intérieur de la volière pour mieux observer les animaux et ne pas les perturber.

Sept bâtons (tiges de raphia) ont été attachés horizontalement rasant le plafond de la cage. Sur chaque bâton, des ficelles de 3 à 5 cm ont été nouées à la verticale et sont distantes entre elles de 5 à 7 cm. Au bout de ces ficelles, des fruits de *Ficus sakalavarum* et de *Ziziphus jujuba* ont été attachés, intercalés selon la catégorie et l'espèce (Figure 4.1). Une branche sèche avec de petites ramifications a été laissée dans un coin de la volière pour servir de perchoir à la chauve-souris. Des trous ont été percés dans la bâche pour observer les comportements alimentaires de *Rousettus madagascariensis*.

Le protocole expérimental consiste à présenter à chaque chauve-souris des fruits frais collectés sur ou sous les arbres. Trente à 35 fruits par catégorie ou espèce ont été offerts pour chaque expérience pour s'assurer que le choix de l'animal n'est pas affecté par l'insuffisance des fruits dans l'une ou l'autre catégorie.

Pour cette expérience, des individus de *R. madagascariensis* ont été capturés dans les sites d'alimentation à *Z. jujuba* et à *F. sakalavarum* avec des filets japonais standards (mailles de 6 mm, 6 m ou 9 m de long chacun avec quatre poches) attachés à des perches de 4 m. Les chauves souris capturées sont placées la nuit suivante dans la volière.

4.3.4.1. Expérience 1

L'expérience s'est déroulée comme suit : 39 individus à qui on a présenté des fruits à deux stades de maturation de *Ziziphus jujuba* et des fruits mûrs de *Ficus sakalavarum* ont été introduits un par un dans la volière durant 70 min, à raison de trois individus par nuit (le lendemain de leur capture, de 18.30 H à 22.00 H) et pendant 13 nuits. *R. madagascariensis* s'alimente généralement sur un laps de temps de 20 à 40 min mais nous avons laissé l'animal 70 minutes. Afin de les identifier et éviter qu'un individu ne soit utilisé plus d'une fois au cours des expériences, l'animal utilisé est marqué au niveau de la tête à l'aide de teinture de fourrure (Balsam & Sagarin, 1972). A la fin de l'expérience, la chauve-souris est chassée de la volière. Avant de débiter une nouvelle expérience, les fruits endommagés par la chauve-souris précédente sont remplacés par des fruits frais intacts. Les variables prises en compte pour cette première expérience sont : le comportement de la chauve-souris, la durée du repas par individu et par fruit, l'estimation en % du volume de fruit mangé par fruit, le nombre, l'espèce et catégorie de fruits de *Z. jujuba* mangés.

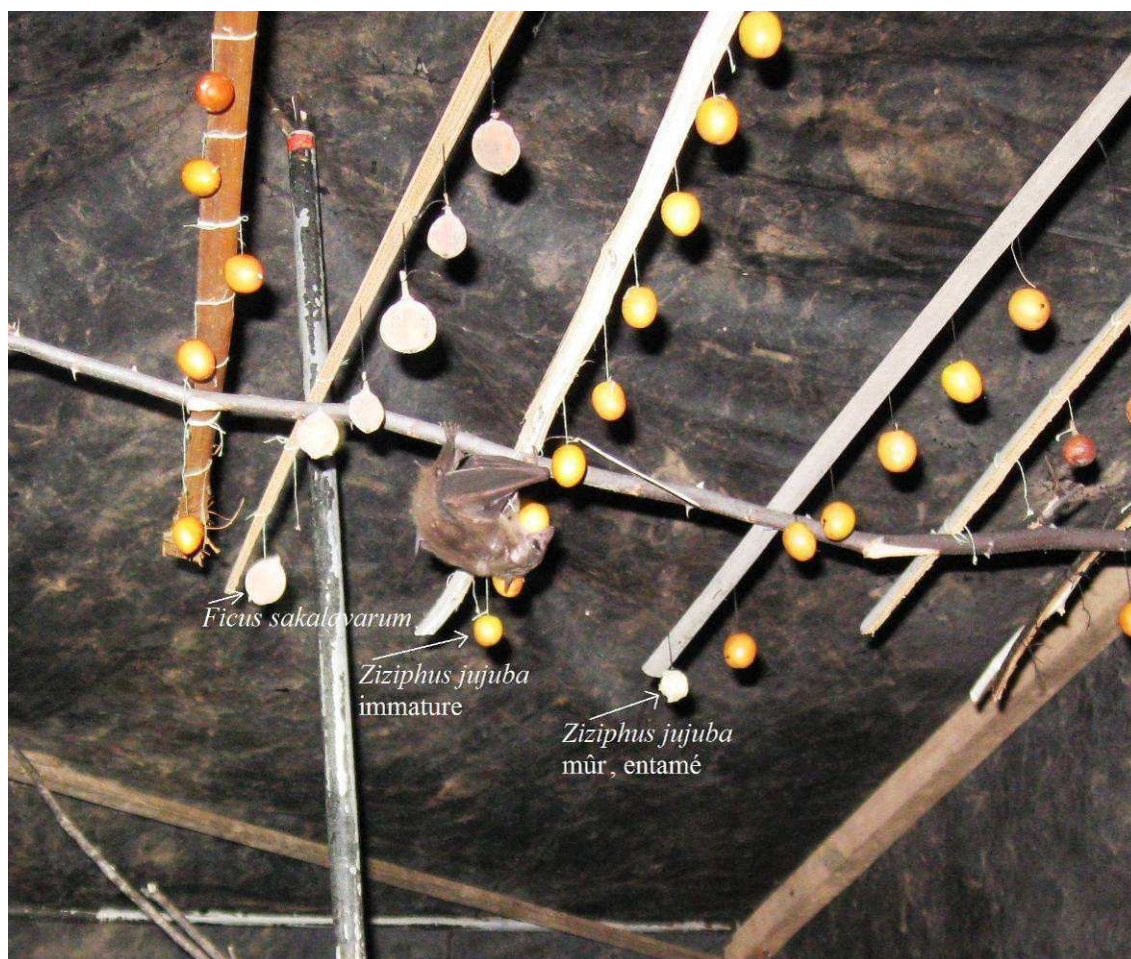


Figure 4. 1 : Arrangement des fruits et chauves-souris (*Rousettus madagascariensis*) choisissant parmi les fruits proposés dans la volière. (Cliché par Andoniaina R. Andrianaivoarivelo.)

4.3.4.2. Expérience 2

Neuf autres individus ont été capturés pour cette deuxième expérience. Chaque individu est laissé dans la volière toute une nuit (19.00 H à 05.00 H) sans surveillance. A la fin de l'expérience, à cinq heures du matin, la chauve-souris est libérée et le nombre de fruits restants (*Z. jujuba*, quel que soit le stade de murissement, et *F. sakalavarum*) pour chaque espèce est compté.

D'autre part, au début de chaque expérience, le nombre de fruits et le poids de chacun d'entre eux est noté. Afin de connaître la masse de fruit mastiquée, la différence du poids des fruits mis dans la volière avant et après l'expérience (fruits restants entamés ou non) est calculée pour chacune des deux espèces de fruits.

Pour estimer le nombre de graines de *Ficus sakalava* avalés par individu de *Rousettus madagascariensis*, les graines de *Ficus* contenues dans les fèces récoltés par terre sont comptées. Une feuille en plastique a été étalée sur le sol dans la volière pour faciliter la collecte des matières fécales. Puisque la chauve-souris mange plus d'un fruit normalement, nous avons divisé le nombre de graines dans les fèces par le nombre de fruits mangés pour estimer les graines avalées par fruit. Ces graines représentent le nombre minimal de graines que peut avaler une chauve-souris dans la nuit puisque toutes les graines qu'elle avait avalées durant l'expérience n'ont pas toutes été déféquées durant son passage dans la volière. Cette deuxième expérience nous permet aussi d'estimer le rapport entre le nombre de fruits autochtones et introduits mangés par *R. madagascariensis* et la proportion de graines susceptibles d'être disséminées par fruit. Le reste des fruits et les débris (pelotes, morceaux de fruits, fèces etc.) sont retirés et des fruits frais y sont introduits à la fin du jour pour l'expérience suivante.

4.3.5. Observation de la consommation de fruits par *Rousettus madagascariensis* dans la nature

Des observations ont été réalisées sur 10 pieds de *Ziziphus jujuba* ayant suffisamment de fruits mûrs (plus de 25% des fruits sur l'arbre observé). Les pieds de jujubier ont été surveillés de 19.00 heures à 06.00 heures du matin. Le comportement des animaux venus s'alimenter a été observé dans le but de savoir s'ils mangeaient les fruits sur place ou s'ils transportaient les fruits ailleurs. La visite était chronométrée pour chaque individu observé.

4.3.6. Observation des fruits récoltés sous les arbres

Une fois mûrs, les fruits de *Ziziphus jujuba* tombent sous l'effet du vent et de la pesanteur. Pour estimer la quantité de fruits entamés par *Rousettus madagascariensis* par pied, nous avons collecté les fruits trouvés au sol pour les 17 pieds de *Z. jujuba* sélectionnés. Cinquante fruits encore frais par pied ont été récoltés et observés. L'observateur a répertorié et compté ceux qui portaient des traces de dents de *R. madagascariensis* sur les 50 fruits collectés par pied. Cette espèce laisse des empreintes dentaires spécifique et reconnaissable sur les restes des fruits qu'elle mange (travail en cours). Ces observations avaient pour but de vérifier si *R. madagascariensis* mangeait ces fruits dans la nature et pas seulement dans notre cage d'expérimentation où elle pouvait ne pas avoir d'autre choix que de manger les fruits que nous lui avions offerts.

4.3.7. Tests statistiques

A cause de la distribution non normale des variables (histogramme de données excentré vers la gauche) masse, longueur et concentration en glucose de la pulpe des fruits, elles ont été transformées en log puis analysées par le test de student pour chercher les différences de ces variables entre les espèces de *Ziziphus jujuba* et *Ficus sakalavarum*.

Pour chaque espèce (catégorie) de fruit, la durée de prise de nourriture, la masse mastiquée et le nombre de fruits mangés par individu ont été comparées pour tester la préférence des chauves-souris pour l'une ou l'autre des espèces de fruit, ou pour une catégorie de fruits (pour seulement l'espèce *Z. jujuba*). Ces analyses ont été répétées pour chaque classe d'âge et de sexe. Des modèles linéaires sur données transformées (log) ne répondent pas aux critères de validité d'utilisation de ce type d'analyse (non normalité des résidus), nous présentons les résultats de tests non paramétriques (test de Wilcoxon et test de Kruskal-Wallis).

4.4. RESULTATS

4.4.1. Résultat des mesures et analyses faites sur les fruits

Ficus sakalavarum est plus long et plus lourd que *Ziziphus jujuba*, mais son taux de sucre est moins élevé (Tableau 4.1). Les fruits de *Z. jujuba* mûrs sont plus concentrés en sucre que les fruits immatures (Tableau 4.1). Le nombre de graines de *F. sakalavarum* varie de 54 à 384 avec une moyenne de 179 graines par fruit.

4.4.2. Comportement alimentaire

Au cours de l'expérience, le comportement le plus commun en volière observé chez *Rousettus madagascariensis* est de voler pour trouver un perchoir. Puis, elle s'approche d'un fruit par un vol direct, se tournant parfois en l'air avant de se percher sur la tige de raphia où le fruit est attaché. Elle mange le fruit quelques minutes, se repose près de celui-ci ou le transporte vers le perchoir fait de branches sèches. La chauve-souris mange alors une partie ou tout le fruit. Elle l'entame par son bout supérieur. Les fibres des fruits des deux espèces que nous avons utilisées ont été recrachées et leur jus avalé. Parfois, elle revient à plusieurs reprises sur le même fruit (données non collectées). Environ la moitié du nombre des fruits mangés que ce soit pour *Ficus* ou *Ziziphus jujuba* a été mangée sur place et la moitié emportée et entamée sur les branches

Tableau 4. 1 : Comparaison de la morphométrie : longueur, poids et taux de sucre (en degré Brix) des fruits de *Ziziphus jujuba* et de *Ficus sakalavarum*. Le t-test représente les résultats du test de Student.

Fruits	<i>Ziziphus jujuba</i> immatures	<i>Ziziphus jujuba</i> mûrs	<i>Ficus sakalavarum</i>	t-test (entre les fruits mûrs de deux espèces)
Longueur : fruits (mm)	21,17 ± 1,54 (N = 33)	21,45 ± 1,80 (N = 31)	26,6 ± 3,7 (N = 28)	t = 9.2351, df = 87 P < 0,0001
Longueur : graines (mm)	14,47 ± 1,56 (N = 33)	14,89 ± 1,98 (N = 31)	-	-
Poids : fruit(g)	3,6 ± 0,96 (N = 27)	5,12 ± 1,1 (N = 37)	7,2 ± 1,71 (N = 28)	t = 3.462, df = 72 P < 0,0001
Teneur en sucre (%)	12,30 ± 4,7 (N = 33)	15,16 ± 4,28 (N = 31)	8,5 ± 2,43 (N = 28)	t = -9.1906, df = 61 P < 0,0001
Graines (nombre)	1 (N = 33)	1 (N = 31)	179 ± 100 (N = 28)	-

Tableau 4. 2 : Comportement de *Rousettus madagascariensis* mangeant les fruits de *Ficus sakalavarum* et de *Ziziphus jujuba*. Les chiffres entre parenthèses sont les pourcentages par rapport au total des fruits entamés.

Fruit mangé	Total (%)	Total <i>Ficus sakalavarum</i> (%)	Total <i>Ziziphus jujuba</i> (%)
Sur place	65 (53)	41 (59)	24 (47)
Sur place et ailleurs	4 (3)	3 (4)	1 (2)
Ailleurs	46 (38)	24 (34)	22 (43)
Seulement trace de dents	7 (6)	2 (3)	4 (8)

perchoirs (Tableau 4.2). Pour manger le fruit, la chauve-souris le tient entre les deux avant-bras et le thorax et parfois avec le pied.

Préférence entre les deux espèces de fruits utilisés et choix de Rousettus madagascariensis parmi les fruits de Ziziphus jujuba à différents stades de développement (expérience 1)

Parmi les 39 chauves-souris laissées pendant 70 minutes dans la volière, huit n'ont rien mangé. Sur les 31 restantes (18 femelles : 10 adultes et 8 jeunes et 13 mâles : 10 adultes et 3 jeunes), six n'ont pas mangé le *Ficus sakalavarum* mais seulement le *Ziziphus jujuba*, 12 seulement le *Ficus* et 13 individus ont mangé les deux espèces de fruits.

Le nombre de fruits de *F. sakalavarum* et celui de *Z. jujuba* mangés par individu de *Rousettus madagascariensis* est similaire (Wilcoxon : $V = 261,5$, $P = 0,344$). Les moyennes de nombre des fruits mangés sont de $2,2 \pm 2,4$ ($N = 31$) et de $1,6 \pm 2,0$ ($N = 31$) par individu respectivement pour *F. sakalava* et *Z. jujuba* (Figure 4.2c).

Par contre, on a constaté que les fruits immatures grands (nombre moyen = $0,6 \pm 0,9$, $N = 31$) ou petits (nombre moyen = $0,7 \pm 1,3$, $N = 31$) sont mangés en abondance (Kruskal-Wallis, $df = 3$, $K = 13,19$, $P = 0,004$, Figure 4.3c) par rapport aux fruits mûrs de grande (nombre moyen = $0,06 \pm 0,2$, $N = 31$) ou de petite taille (nombre moyen = $0,1 \pm 0,4$, $N = 31$).

Il n'y a pas de différence significative entre la durée de prise de nourriture pour les deux espèces (Figure 4.2a) de fruits utilisées (Wilcoxon : $V = 297,5$, $P = 0,337$). Les moyennes des durées de prise de nourriture sont de $6,61 \pm 8,13$ ($N = 31$) et de $5,63 \pm 5$ ($N = 31$) minutes par individus et par espèce pour *F. sakalava* et *Z. jujuba* respectivement.

Les durées de prise de nourriture par individu pour les fruits de *Z. jujuba* à différents stades de murissement sont significativement différentes (Kruskal-Wallis, $df = 3$, $K = 12,856$, $P = 0,004$). En effet, une chauve-souris met plus de temps pour mastiquer les fruits immatures grands (durée moyenne = $4,1 \pm 7,9$ mn, $N = 31$) ou petits (durée moyenne = $3,5 \pm 5,8$ mn, $N = 31$) que les fruits mûrs de grande (durée moyenne = $0,45 \pm 1,8$ mn ; $N = 31$) ou de petite (durée moyenne = $1,1 \pm 5,0$ mn, $N = 31$) taille.

Il y a une différence significative entre les masses des fruits consommés pour les deux espèces de fruits utilisées (Wilcoxon : $V = 360$, $P = 0,029$), la masse de *F. sakalavarum* mastiquée est plus importante que celle de *Z. jujuba*. Les moyennes des masses des fruits mangées sont de $10,97 \pm 14,16$ g ($N = 31$) et de $4,16 \pm 6,09$ g ($N = 31$) par individu respectivement pour *F. sakalava* et *Z. jujuba*.

Les masses de fruits mangés par individu pour les catégories de fruits de *Z. jujuba* sont significativement différentes (Kruskal-Wallis, $df = 3$, $K = 11,781$, $P = 0,008$, Figure 4.3b). En effet, une chauve-souris mange plus de fruits immatures de grande (masse du fruit = $2,0 \pm 3,5$ g, $N = 31$) ou de petite (masse du fruit = $1,3 \pm 2,7$ g, $N = 31$) taille que de fruits mûrs de grande (masse moyenne = $0,35 \pm 1,4$ g, $N = 31$) ou de petite (masse du fruit = $0,4 \pm 1,3$ g, $N = 31$) taille.

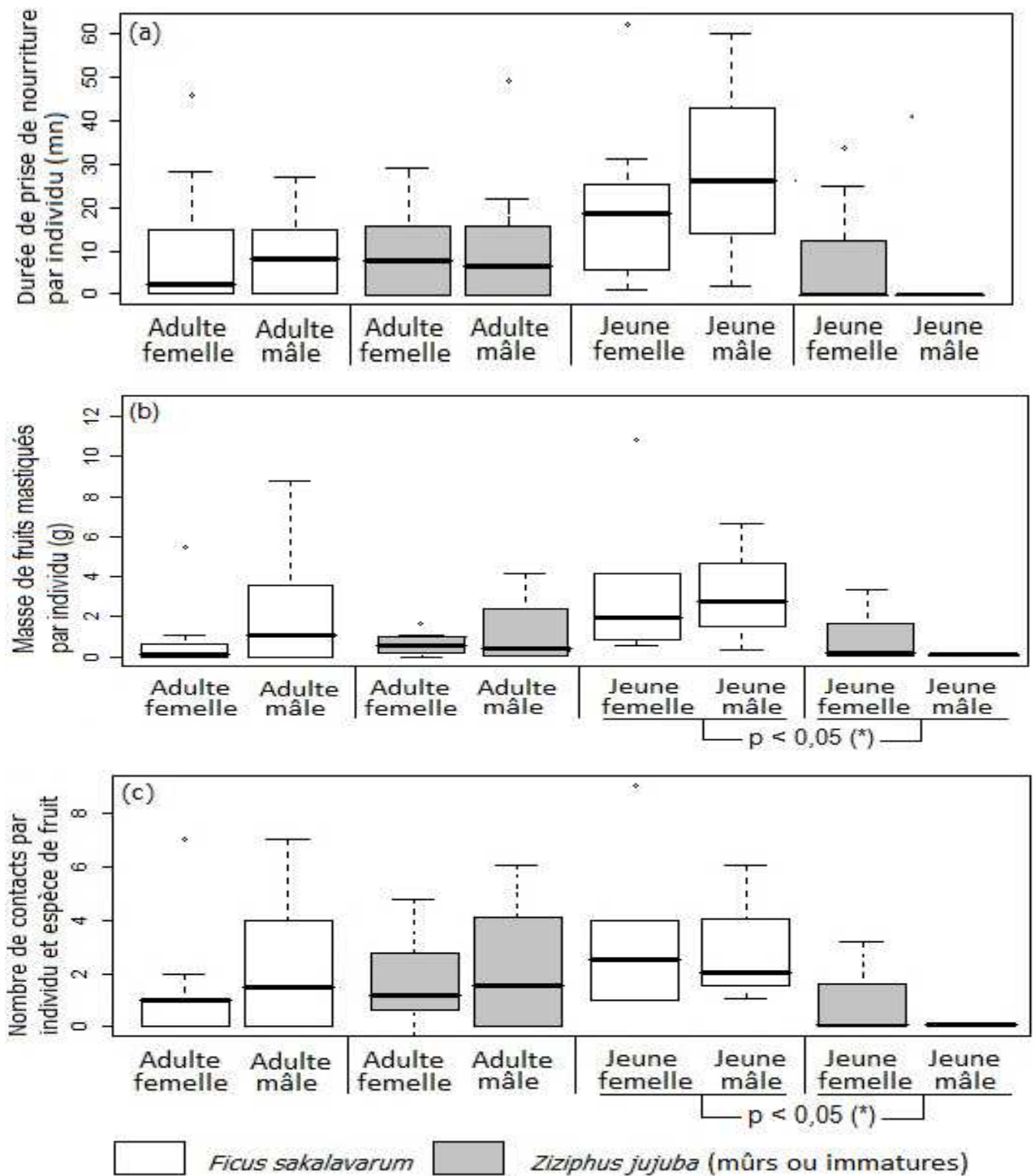


Figure 4. 2 : Boîtes à moustaches des variables durée de prise de nourriture (a), masse (b) et nombre (c) de fruits mangés par espèces de fruits (*Ficus sakalavarum* et *Ziziphus jujuba*) et par individu de *Rousettus madagascariensis*. Les traits gras représentent les médianes et les quartiles supérieur et inférieur correspondent aux traits inférieur et supérieur de la boîte. Les losanges correspondent aux valeurs extrêmes supérieures. L'astérisque indique une différence significative entre les deux espèces.

4.4.3. Comparaison en fonction de l'âge et du sexe des individus

- Variations liées au sexe

La variable espèce de fruit n'affecte aucune des trois variables (durée de prise de nourriture ; masse et nombre de fruits consommés) sur la préférence des individus mâles ou femelles (Figure 4.2).

Les femelles montrent une préférence significative pour les fruits immatures de *Zizyphus jujuba*, quelle que soit la variable analysée (Wilcoxon ; durée de prise de nourriture, $V = 104$, $P = 0,013$; masse de fruits mastiqués, $V = 105$, $P = 0,011$; nombre de fruits mastiqués, $V = 105$, $P = 0,009$; Figure 4.3). Chez les mâles, la même préférence affecte les variables durée de prise de nourriture (Wilcoxon, $V = 50$, $P = 0,024$; Figure 4.3a) et nombre de fruits mastiqués (Wilcoxon, $V = 42,5$, $P = 0,019$, Figure 4.3c).

- Variations liées à l'âge

Une différence significative entre les deux espèces de fruits existe sur la masse (Wilcoxon, $V = 60$, $P = 0,013$, Figure 4.2b) et le nombre des fruits mangés par les jeunes (Wilcoxon, $V = 56,5$, $P = 0,039$, Figure 4.2c). En effet, les jeunes mangent plus de *Ficus sakalavarum* que de *Zizyphus jujuba* (Figure 4.2). Les jeunes mâles n'ont pas mangé l'espèce *Z. jujuba*. Les adultes des deux sexes mangent des quantités similaires de *F. sakalavarum* et de *Z. jujuba* (Figure 4.2).

Les adultes contrairement aux jeunes manifestent une préférence significative pour les fruits immatures (Wilcoxon ; durée de prise de nourriture, $V = 221$, $P = 0,002$; masse de fruits mastiqués, $V = 207$, $p = 0,009$; nombre de fruits mastiqués, $V = 204$, $P = 0,002$; Figure 4.3). Quelle que soit la variable considérée, adultes et jeunes individus évitent les fruits mûrs de *Z. jujuba* (Figure 4.3).

4.4.4. Aspect quantitatif et qualitatif de l'alimentation des individus laissés dans la volière durant la nuit (expérience 2).

Sur les neuf individus utilisés (tous adultes) au cours de ces expériences, trois d'entre eux n'ont pas mangé le *Ficus sakalavarum* tandis qu'un individu seulement n'a pas mangé de *Zizyphus jujuba* et les cinq restants ont utilisé les deux espèces à la fois. A noter qu'il n'y avait pas de lien entre le poids de la chauve-souris et la masse ou le nombre de fruits mangés (Masse

de fruits, Coefficient de corrélation, $r = 0,24$, $N = 10$, $P = 0,49$; Nombre de fruits, Coefficient de corrélation $r = 0,19$, $N = 20$, $P = 0,40$).

Il n'y a pas de différence significative sur la masse (Wilcoxon, $V = 24$, $p = 0,906$) de fruits mangés par individu. Par contre, le nombre de fruits mastiqués entre les deux espèces par individu par nuit est significativement différent (Wilcoxon, $V = 4$, $P = 0,032$). En effet, le nombre de fruits mangés par individu par nuit peut aller jusqu'à 27 pour *Z. jujuba* et 15 pour *F.*

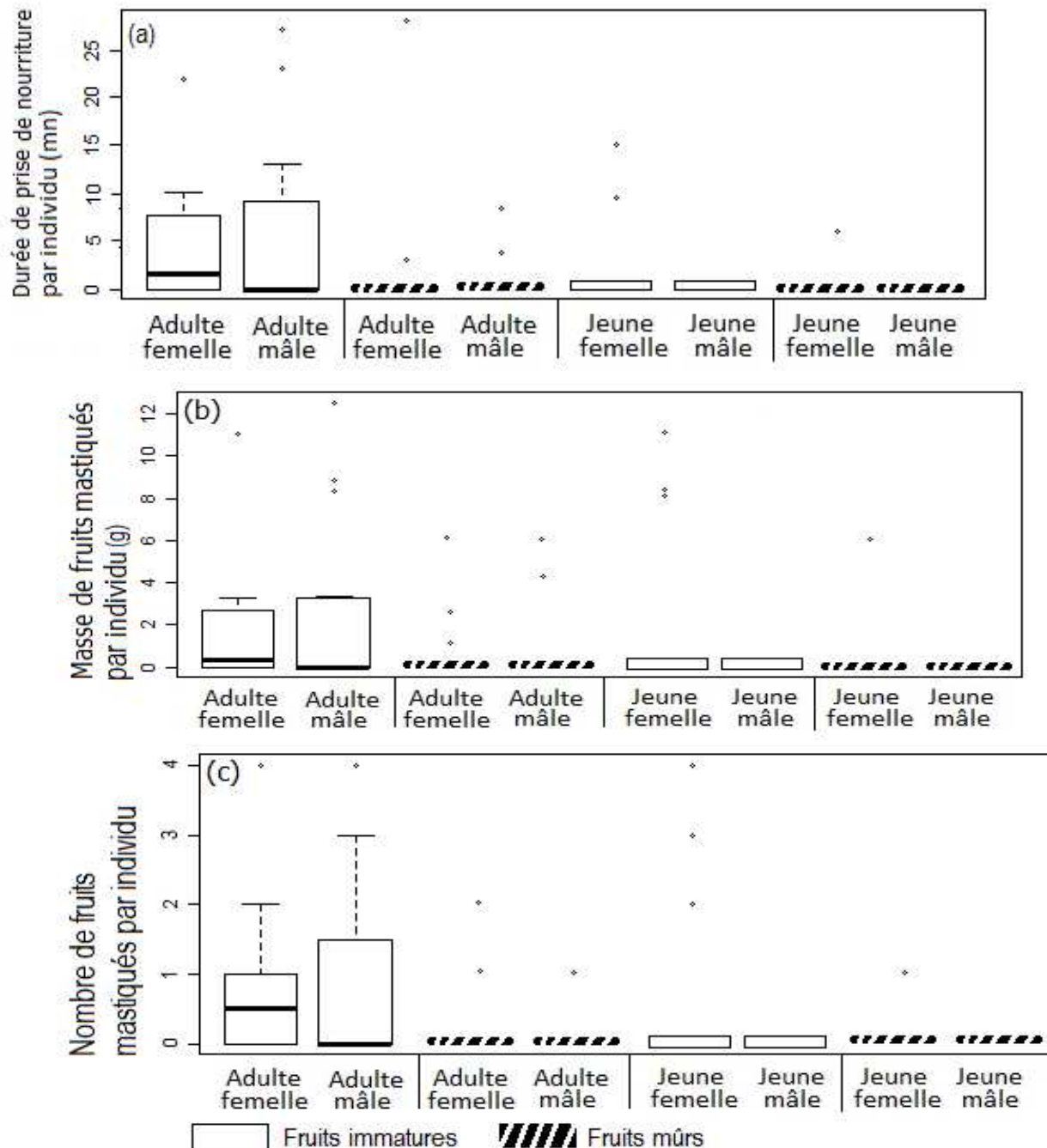


Figure 4. 3 : Boîtes à moustaches des variables durée de prise de nourriture (a), masse (b)

et nombre (c) de fruits mangés par stade de maturation des fruits (*Ziziphus jujuba*) et individu de *Rousettus madagascariensis*. Les traits gras représentent les médianes et les quartiles supérieur et inférieur correspondent au trait inférieur et supérieur de la boîte. Les losanges correspondent aux valeurs extrêmes supérieures.

sakalavarum. Les masses de fruits mastiqués sont respectivement de $21,8 \pm 20,6$ g et de $19,0 \pm 16,7$ g pour *F. sakalavarum* et *Z. jujuba*.

Le nombre moyen de graines qui passe à travers le système digestif ou collecté dans les fèces d'un individu de *Rousettus madagascariensis* est de 615 ± 231 graines (238 à 932) ce qui représente une moyenne de $39 \pm 15\%$ de graines d'un fruit. C'est un nombre minimum car la chauve-souris peut déféquer encore des graines après sa sortie de la volière. De plus, l'animal a eu le choix de manger les fruits de *Z. jujuba* ce qui pourrait avoir réduit le nombre de *Ficus* mangés. La pulpe *Z. jujuba* est consommée tandis que les graines sont retrouvées intactes dans la volière.

4.4.5. Observation des comportements dans la nature et des fruits entamés sur les pieds de *Ziziphus jujuba*

Rousettus madagascariensis a été observée prenant les fruits de *Ziziphus jujuba*. Le feuillage dense a souvent empêché de bien observer le comportement de *R. madagascariensis*. Sur 10 visites observées, on a noté que dans quatre cas, le fruit est emporté ailleurs par l'animal ; dans les cas restants, on l'a vu se poser sur la branche mais on n'a pas pu observer si elle prenait les fruits ou non. Deux visites de *Pteropus rufus*, la plus grande chauve-souris frugivore de Madagascar, ont été aussi notées. Elle s'est perchée sur les branches, a pris le fruit, et s'est envolée.

Les fruits ramassés sous trois des 17 pieds étudiés ne portaient aucune trace de dents de *R. madagascariensis*, alors que pour les autres pieds, il y a eu au moins un fruit marqué. Le nombre maximum de fruits marqués par les empreintes dentaires de cet animal sous un pied est de 17. Nous avons constaté que le fruit entamé par *R. madagascariensis* n'est pas entièrement mangé, au moins une portion de la chair de la partie distale du fruit reste intacte.

4.5. DISCUSSION

4.5.1. Préférence alimentaire entre *Ziziphus jujuba* et *Ficus sakalavarum*

En situation expérimentale, dans la volière, *Rousettus madagascariensis* consommait autant de *Ziziphus jujuba* que de *Ficus sakalavarum*. Son choix n'est visiblement motivé ni par la masse des fruits ni par le taux de sucre contenu dans la pulpe. Sans doute, ces deux fruits étaient ils nécessaires au régime alimentaire de *Rousettus madagascariensis*.

Cependant pour ces deux espèces de plantes, nous avons constaté que les jeunes chauves-souris préfèrent les fruits de *F. sakalavarum*. Nous avons aussi observé un changement de préférence alimentaire entre les jeunes et les adultes. Les jeunes mangaient plus de *Ficus* que de *Z. jujuba*, ce qui pourrait être lié à un problème comportemental, si les jeunes en question n'avaient pas au préalable eu l'occasion d'intégrer cette espèce à leur régime alimentaire. D'une part, étant donné que les tiges du *Z. jujuba* sont épineuses, le fruit ne pourrait être enlevé qu'en vol stationnaire, un comportement non encore acquis chez les jeunes chauves-souris. D'autre part, les fruits de *Ficus* seraient riches en éléments utiles à la croissance des jeunes. En effet, des éléments tels que le calcium et l'azote sont nécessaires pour assurer une croissance rapide des jeunes (Morrison, 1980 ; Wendeln & Runkle, 2000) avant d'entamer la période sèche plus prolongée (septembre et octobre) pendant laquelle les aliments qui leur sont utiles sont peu abondants dans la nature.

D'ailleurs, les adultes mangent les deux espèces de plantes, *Z. jujuba* étant plus riche en sucre (Tableau 3.1), de sorte qu'une préférence plus marquée vis-à-vis des fruits immatures de *Z. jujuba* a été constatée. L'animal s'est peut être adapté à cette espèce depuis son introduction à Madagascar, il y a quelques centaines d'années. Pour le cas des individus qui ont mangé les deux espèces en même temps, les éléments nutritionnels trouvés dans l'une ou l'autre espèce ne pourront pas satisfaire le besoin de l'animal mais certains éléments essentiels peuvent être présents dans l'une et font défaut ou sont en quantité minime dans l'autre, ce qui l'incite à consommer les deux espèces à la fois. Les apports nutritionnels des deux fruits n'ont pas pu être analysés faute de données, mais Singh *et al.* (1967) ont montré que les taux de protéine (1,03 à 1,18%), de phosphore, de calcium et de Vitamine C (70-165 mg/100 g), sont importants dans la pulpe de *Z. jujuba*.

Le choix plus marqué envers *Ficus* supporte les assertions des chercheurs (Raheriarisena, 2005 ; Picot *et al.*, 2007 ; Ratrimomanarivo, 2007) qui affirment que *Ficus* est un des fruits les

plus importants dans l'alimentation des frugivores tropicaux. Selon Wendeln *et al.* (2000), les espèces de *Ficus* diffèrent dans leur valeur nutritive ce qui conduit les frugivores à se nourrir d'espèces autres que le *Ficus* afin de se procurer les éléments nutritionnels appropriés.

4.5.2. L'alimentation de *Rousettus madagascariensis* suivant la maturation des fruits

Nous avons constaté au cours de nos expériences et observations dans la nature que l'espèce introduite *Z. jujuba* entre dans l'alimentation de *R. madagascariensis*. Cette étude est parmi celles montrant la contribution des espèces de plantes introduites à l'alimentation de *Rousettus madagascariensis*. Ainsi, Andrianaivoarivelo *et al.* (2007) ont étudié à l'Est de Madagascar l'alimentation de l'espèce sur *Dymocarpus longan*, une plante à valeur économique importante. A l'extrême Sud-est, les bananes (*Musa paradisiaca*) font aussi partie de son alimentation (Goodman, 1999).

Les fruits immatures moins riches en sucre de *Z. jujuba* ont été mangés en abondance par rapport aux fruits mûrs, cela vient peut être aussi du fait que les taux du sucre contenu dans la pulpe n'est pas le seul facteur influençant le choix de la chauve-souris, mais aussi possiblement la différence de teneur en d'autres éléments que nous n'avons pas déterminée. Selon Mattson (1980), les fruits riches en protéines et lipides attirent plus les frugivores que ceux riches en glucide.

Nos expériences et observations montrent que l'animal ne consomme pas tous les fruits sur place mais les transportait sur d'autres perchoirs avant de les manger. Les fruits choisis par *R. madagascariensis* sont des fruits qui ne sont pas totalement mûrs, ce qui est probablement dû à la phénologie de la fructification de la plante. *R. madagascariensis* consomment les fruits encore accrochés sur les branches, elles choisissent ceux qui sont solides et pas totalement mûrs. Les graines sont rejetées et restées intactes après que la chauve-souris ait mangé la chair. Pour que la germination des graines soit effective, elle doit subir la scarification mécanique et les actions chimiques induisant la germination (Danthu *et al.*, 1992), ce dont *R. madagascariensis* n'est pas capable sur les graines de jujube. La scarification mécanique des graines de jujube qui implique la fente, l'entaille ou l'enlèvement partiel de l'endocarpe ayant un aspect osseux est nécessaire pour le succès de la germination (Grice, 1996). Selon Grice (1996), les graines avalées par d'autres animaux frugivores peuvent rester dans le tube digestif pendant au moins 12 jours et une grande proportion de graines excrétées contient des graines viables qui réalisent 88 % de la

germination. Un test de germination de graine mérite d'être réalisé afin de voir l'efficacité de *R. madagascariensis* sur la dissémination des graines de *Z. jujuba*.

Rousettus madagascariensis dépend de *Z. jujuba* pour améliorer son régime alimentaire au cours de la saison sèche pendant laquelle les fruits disponibles sont peu nombreux. Cette plante, vue sa large distribution le long de la côte Ouest Madagascar, constitue une ressource alimentaire importante pour *R. madagascariensis* et pourrait faciliter le mouvement voire même la migration de l'espèce au cours de la saison sèche entre sites situés dans des régions éloignées géographiquement les uns des autres. La faible différenciation génétique ou panmixie entre les populations de cette espèce situées dans différentes régions lointaines (Goodman *et al.*, 2010) peut être due à la migration laquelle est probablement facilitée par l'existence de telles plantes qui ravitaillent l'animal au cours de sa route.

4.5.3. Dissémination des graines chez *Ficus sakalavarum*

Les résultats montrent que les graines de petite taille (*Ficus sakalavarum*) ont été soit rejetées sous forme des pelottes de régurgitation soit avalées. Des études ont montré que les Pteropodidae malgaches assurent la dissémination des graines de *Ficus*. Sur les hautes terres malgaches où la végétation est constituée par des savanes arborées anthropogéniques et des vestiges de forêt de haute altitude, Ratrimomanarivo (2007) a trouvé des graines de *F. lutea*, *F. pachyclada* et *F. reflexa* dans les fèces d'*Eidolon dupreanum*. Picot *et al.* (2007) ont également mentionné que des graines de *F. pyrifolia* et *F. brachyclada* accompagnaient les fèces de *E. dupreanum* à l'Est, une zone caractérisée de forêts denses humides et de formations secondaires.

Lors de leur expérience, Picot *et al.* (2007) ont réussi à faire germer avec plus de succès les graines de *F. brachyclada* et de *F. pyrifolia* issus de fèces d'*E. dupreanum* que celles des fruits non avalés par des animaux. Certaines espèces de chauves-souris frugivores, à l'instar de *Cynopterus sphinx* (une espèce asiatique pesant 75.3 ± 13.36 g), peuvent disperser les graines sur plusieurs centaines de kilomètres (Shilton *et al.* 1999). Des recherches sur l'importance du transport de graines zoochores vers des sites lointains et sur les flux génétiques entre population de plantes isolées entre elles sont alors nécessaires (Shilton *et al.*, 1999). Ces recherches consistent à montrer si les distances génétiques entre les populations des plantes sont faibles ce qui pourraient être du aux échanges génétiques constantes occasionnées par les frugivores.

Dans la volière, *Rousettus madagascariensis* défèque après avoir avalé la quasi-totalité des graines des fruits mangés. Les espèces qui consomment beaucoup de *Ficus* possèdent une

probabilité élevée de disséminer les graines (Shanahan *et al.*, 2001). Ce n'est pas seulement l'abondance de fruits mangés qui compte pour l'efficacité de la germination et de la dissémination des graines. Celles-ci doivent passer et ressortir intactes des tubes digestifs comme c'est le cas avec les primates, les chauves-souris frugivores ou les pigeons (Shanahan *et al.*, 2001).

Marshall (1985) concluait que le Figuier est mangé par au moins 47 espèces de Pteropodidae. Comme les fruits sont soit mangés sur place ou transportés vers d'autres perchoirs, les graines de *Ficus* sont disséminées de trois façons : déposition du fruit en vol ou graines accompagnées de pulpe, pelotes de régurgitation contenant les graines si l'animal a juste tiré le jus du fruit ou encore rejet de graines dans les fèces.

La plupart des pieds de *F. sakalavarum* que nous avons étudié à Anjohibe sont isolés des forêts, habitats naturels d'autres espèces frugivores comme les lémuriers. Les pieds groupés ne forment que de petits îlots isolés de forêt qui ne peuvent abriter des communautés de frugivores non-volants. Par conséquent, seuls les animaux à forte mobilité pourront effectuer la dissémination des graines de ces Figuiers isolés à savoir les chauves-souris frugivores, les oiseaux et les potamochères (*Potamocheirus larvatus*) qui se nourrissent des fruits tombés sous les arbres.

4. 6. CONCLUSION

Rousettus madagascariensis consomment les deux espèces de plantes, mais la préférence entre les deux fruits varie en fonction de l'âge de l'animal. Les jeunes chauves-souris ont une préférence pour *Ficus sakalavarum* tandis que les adultes mangent aussi les fruits de *Z. jujuba* jujubes qui ne sont généralement pas très mûrs. Cette espèce pourrait ne pas être considérée comme agent de dissémination de *Z. jujuba* car elle disperse les fruits encore immatures. Presque la moitié des graines de *F. sakalavarum* a été déféquée par *R. madagascariensis* laissée pendant la nuit dans la volière, le reste a été craché sous forme de pelotes de régurgitation. *R. madagascariensis* participe activement à la dissémination des graines de *F. sakalavarum*.

4. 7. REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont à « International Foundation for Science » qui a financé ce travail. Le Département de Biologie Animale de l'Université d'Antananarivo et le Ministère de l'Environnement et des Forêts ont élaboré l'autorisation de recherche nécessaire au cours des

missions sur terrain. Nous tenons à remercier le Dr Steven M. Goodman pour nous avoir conseillés et apporté des améliorations dans la rédaction de cet article. Nous remercions également tous ceux qui nous ont aidés à la réalisation de cette étude entre autres Mr Eugène Ambonimanana et Mr Rabemiary nos guides à Anjohibe.

4.7. REFERENCES

- ANDRIAFIDISON, D., ANDRIANAIVOARIVELO, R.A., RAMILJAONA, O.R., RAZANAHOERA, M.R., MACKINNON, J., JENKINS, R.K.B. & RACEY, P.A. (2006).— Nectarivory by endemic malagasy fruit bats during the dry season. *Biotropica*, 38(1) : 85-90.
- ANDRIANAIVOARIVELO, R.A., RAMILJAONA, O. & ANDRIAFIDISON, D. (2007).— *Rousettus madagascariensis* Grandidier 1929 feeding on *Dimnocarpus longan* in Madagascar. *African Bat Conservation News*, 11 : 3-4.
- AZAM-ALI, S., BONKOUNGOU, E., BOWE, C., DEKOCK, C., GODARA, A. & WILLIAMS, J.T. (2006). — *Ber & other jujubes*. International Centre for Underutilised Crops, University of Southampton, Southampton. 152.
- BALSAM, M.S. & SAGARIN, E. (1972).— *Cosmetics Science & Technology*. John Wiley and Sons, Baltimore, New York, 605.
- BERG, C.C. (1986).— The *Ficus* species (Moraceae) of Madagascar and the Comoro Islands. *Adansonia*, 4(8) : 17-55.
- BERG, C.C. (1990).— Annotated check-list of the *Ficus* species of the African floristic region, with special reference and a key to the taxa of southern Africa. *KIRKIA: Journal of Botany of Zimbabwe*, 13(2) : 253-291.
- BOLLEN, A. & VAN ELSACKER, L. (2002).— Feeding ecology of *Pteropus rufus* (Pteropodidae) in the littoral forest of Sainte Luce, SE Madagascar. *Acta Chiropterologica*, 4 : 33-47.
- BROOK, G.A., RAFTER, M.A., RAILSBACK, L.B., SHEEN, S.W. & LUNDBERG, J. (1999).— A high-resolution proxy record of rainfall and ENSO since AD 1550 from layering in stalagmites from Anjohibe Cave, Madagascar. *The Holocene*, 9(6) : 695–705.
- BURNEY, D.A., BURNEY, L.P., GODFREY, L.R., JUNGERS, W.L., GOODMAN, S.M., WRIGHT, H.T. & JULL, A.J.T. (2004).— A chronology for late prehistoric Madagascar. *Journal of Human Evolution*, 47 : 25-63.
- CAPURON, R. (1965).— *Matériaux pour l'étude de la flore forestière de Madagascar « Rhamnacées », chef de la division de la botanique*. Centre technique forestier Tropical section de Madagascar, 1-15.

- DANTHU, P., GAYE, A., ROUSSEL, J. & SARR, A. (1992).— *Quelques aspects de la germination des semences de Ziziphus mauritiana*. Paper presented at the IUFRO symposium on tree seeds, 23-27 November (1992), Ouagadougou, Burkina Faso.
- DALECKY, A., KERDELHUÉ, C., JOHNSON, S., RAZAFINDRATSITA, V.R., GRASSI, C., RAZAFIARIMALALA, A.C, OVERDORFF, D., & RASPLUS, J.Y. (2003). — Moraceae, *Ficus* and associated fauna. Pp. 322-344 in S.M. Goodman & J.P. Benstead, (eds). *The Natural History of Madagascar*. Chicago University Press, Chicago.
- DECARY, R. (1934).— Les grottes d'Anjohibe. *La Revue de Madagascar*, 8 : 81–85.
- FROST, S. K. & FROST, P.G.H. (1981).— Sunbird pollination of *Strelizia nicolai*. *Oecologia*, 49 : 379–384.
- GODINEZ –ALVAREZ, H. & VALIENTE-BANUET, A. (2000).— Fruit-feeding behavior of the bats *Leptonycteris curasoae* & *Choeronycteris mexicana* in flight cage experiments : Consequences for dispersal of columnar cactus seeds. *Biotropica*, 32 : 552–556.
- GOODMAN, S.M. (1999).— Notes on the bats of the Réserve Naturelle Intégrale d'Andohahela and surrounding areas of southeastern Madagascar. Pp. 251-257 in A fauna and flora survey of the Réserve Naturelle Intégrale d'Andohahela, Madagascar : With particular reference to elevational variation. *Fieldiana : Zoology*, new series, 94 : 1-297.
- GOODMAN, S.M., CHAN, L.M, NOWAK, M.D., & YODER, A.D. (2010).— Phylogeny and biogeography of western Indian Ocean *Rousettus* (Chiroptera : Pteropodidae). *Journal of Mammalogy*, 91 : 593–606.
- GRICE, A.C. (1996).— Seed production, dispersal & germination in *Cryptostegia grandiflora* and *Ziziphus mauritiana*, two invasive shrubs in tropical woodlands of northern Australia. *Australian Journal of Ecology*, 21 : 324-331.
- HUMBERT, H. (1950).— *Flore de Madagascar et des Comores (Plantes vasculaires)*, 123^e Famille *Rhamnacees*. Typographie Firmin-Didot et Cie imprimeurs de l'Institut, 56, Rue Jacob, PARIS. Pp. 10-14.
- JAWANDA, J.S., AAL, J.S., JOSAN, J.S. & MANN, S.S. (1980).— Studies on the storage of ber fruits. II. Cold temperature. *Punjab Horticultural Journal*, 20(3/4) : 171-178.
- LONG, E. & RACEY, P.A. (2007).— An exotic plantation crop as a keystone resource for an endemic megachiropteran, *Pteropus rufus*, in Madagascar. *Journal of Tropical Ecology*, 23 : 397–407.
- MACKINNON, J.L., HAWKINS, C.E. & RACEY, P.A. (2003).— Pteropodidae, fruit bats, *fanihy*, *angavo*. Pp 1299-1302 In S. M. Goodman & J.P. Benstead (Eds). *The natural history of Madagascar*. Chicago University Press, Chicago.
- MARSHALL, A.G. (1985).— Old World phytophagous bats (Megachiroptera) and their food plants : a survey. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 83 : 351–369.

- MATTSON, W. J. (1980).— Herbivory in relation to nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11 : 119–161.
- MORRISON, D.W. (1978).— Foraging ecology and energetics of frugivorous bat *Artibeus jamaicensis*. *Ecology*, 59 : 716–723.
- PICOT, M.M., JENKINS, R.K.B., RAMILJAONA, O.R., RACEY, P.A. & CARRIERE, S.M. (2007).— The feeding ecology of *Eidolon dupreanum* (Pteropodidae) in eastern Madagascar. *African Journal of Ecology*, 45 : 645–650.
- RAHERIARISENA, M. (2005).— Régime alimentaire de *Pteropus rufus* (Chiroptera : Pteropodidae) dans la région sub-aride du sud de Madagascar. *Revue d'Ecologie*, 60 : 255–264.
- RATRIMOMANARIVO, F.H. (2007).— Etude de régime alimentaire d'*Eidolon dupreanum*, Chiroptera : Pteropodidae, dans la région anthropisée des hautes terres du centre de Madagascar. *Revue d'Ecologie*, 62 : 229–224.
- R Development Core Team : R : A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>
- ROGER, B., SINGLETON, V., BISSON, L. & KUNKEE, R. (1996).— *Principles & Practices of Winemaking*. Chapman & Hall, ISBN 0-8342-1270-6.
- SHANAHAN, M. , SO, S., COMPTON, S. G. & CORLETT, R. (2001).— Fig-eating by vertebrate frugivores : A global review. *Biological Reviews*, 76 : 529–572.
- SHILTON, L.A., ALTRINGHAM, J.D., COMPTON, S.G. & WHITTAKER, R.J. (1999).— Old World fruit bats can be long-distance seed dispersers through extended retention of viable seeds in the gut. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, 266 : 219–223.
- SINGH, S., KRISHNAMURTHY, S. & KATYAL, S.L. (1967). — *Fruit Culture in India*. ICAR, New Delhi, India.
- VASHISHTHA, B.B., PAREEK, O.P., RASEKHARAN, I. & GHAMIN, A. (1989).— Chemotaxonomic relationship among jujube (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) cultivars & some related species. *Annals of the Arid Zone*, 28(1-2) : 123–132.
- WELLS, N.A. & RIAMIHAJA, B.R. (1993).— The initiation & growth of guillies in Madagascar : Are human to blame? *Geomorphology*, 8 : 1–46.
- WENDELN, M.C., RUNKLE, J.R. & KALKO, E.K.V. (2000).— Nutritional values of 14 Figs species and bat feeding preferences in Panamá. *Biotropica*, 32 : 489–501.

CHAPITRE V : POPULATION GENETICS OF *Rousettus madagascariensis*, G. GRANDIDIER, 1928 (PTEROPODIDAE)

Andoniaina R. Andrianaivoarivelo, Gary D. Shore, Susie M. McGuire, Richard K. B. Jenkins, Olga Ramilijaona, Edward E. Louis Jr. & Rick A. Brenneman

SOUS-CHAPITRE V-I : Determination of the microsatellite markers used in the population genetics study. Characterization of 22 microsatellite marker loci in the Madagascar rousette (*Rousettus madagascariensis*)

Published manuscript : *Conservation Genetics* 2008, 10(4) : 1025-1028.

5.1.1. RESUME

Vingt-deux loci de microsatellite (marqueurs) ont été isolés dans une bibliothèque génomique d'ADN de *Rousettus madagascariensis* de Madagascar. Les caractéristiques de ces marqueurs ont été déterminées à partir d'un échantillon prélevé sur une population (37 individus) de Taolagnaro (Sud-est de Madagascar). Seize des ces 22 loci étaient inclus dans l'équilibre de Hardy-Weinberg. Ces loci sont fortement informatifs avec des valeurs polymorphes s'étendant entre 0.757 et 0.916. Ils peuvent fournir des informations pertinentes pour l'étude de la génétique de population et des flux génétiques de cette espèce de chauve-souris. En raison de la perte et du changement dramatique de leur habitat, les données produites par l'utilisation de ces marqueurs peuvent donner des informations additionnelles pour la gestion à long terme et efficace de cette espèce qui est actuellement classée comme presque-menacée.

ABSTRACT

Twenty-two nuclear microsatellite loci were isolated from a genomic DNA library derived from Madagascar's *Rousettus madagascariensis*. Marker characteristics were determined from a single population (37 individuals) from Fort-Dauphin (southeastern Madagascar). Sixteen of the 22 loci were within Hardy-Weinberg expectations. These loci are highly informative with polymorphic information content values ranging between 0.757 and 0.916. These loci will provide valuable information for the study of population genetics and gene flow within this species of bats. Due to the dramatic reduction and alteration of their habitat, data generated

utilizing this marker suite will potentially provide additional information for the effective long-term management of this near-threatened bat species.

Keywords : Genetic markers, *Rousettus madagascariensis*, Pteropodidae, Madagascar, Microsatellites

Rousettus madagascariensis is the smallest of the three endemic frugivorous bats of Madagascar (Bergmans 1990). The ability of this genus to echolocate and hover (Kulzer 1956; Novock 1958) enables it to forage within forests where it is likely to be an important nocturnal pollinator. This is among the few endemic species of bats covering a large distribution in lowland areas of the island, however, few roost sites are known. Roost sites were located in both shallow and deep caves (Juste *et al.* 1999) with infrequent human disturbance. Colony sizes ranged from 300 to several thousand. According to the IUCN Red List (IUCN 1999), this species is listed as one of lower risk, near threatened (LR/nt). Twenty-two nuclear microsatellite loci were isolated from genomic DNA derived from *R. madagascariensis* to estimate population genetic parameters for a population in southeastern Madagascar (Fort-Dauphin).

Genomic DNA was isolated from tissue from *R. madagascariensis* sampled in Kianjavato Classified Forest, Madagascar. Procedures for construction of the genomic DNA library, identification of plasmids containing (GT)_n inserts, plasmid preparation, and sequencing were carried out as generally described by Hillis *et al.* (1996). Isolated genomic DNA was digested using *Sau*3A restriction enzyme. The digested DNA was sized using Clontec chromaspin columns to remove fragments under 400 bp. Sized DNA was ligated to primers forming bluntended DNA pieces. Ligated DNA was enriched using PCR based on Moraga-Amador *et al.* (2001), a modification of Kandpal *et al.* (1994). Enriched DNA was denatured and a biotinilated probe annealed to the DNA. The biotinilated DNA was captured using Vector Laboratory (Burlingame, CA) Vectrex Avidin D and non-annealed DNA was washed away. After releasing captured DNA from the Vectrex Avidin D, a second round of PCR enrichment was performed. An Invitrogen (Carlsbad, CA) TOPO A plasmid ligation was performed following this PCR. Following transformation, cells were plated onto LB agar plates including ampicillin and X-gal. Plates were picked for positive white colonies that were placed on Pall (East Hill, NY) Biodyne B nylon membranes. A Southern blot of the colonies was done using DIG-labeled oligonucleotide. Plasmid preps of the positive colonies from the Southern blot were sequenced

and primers were designed from the two regions flanking the microsatellite repeat motif. Of 4,430 clones screened, 1,080 were positive for a microsatellite insert and the first 22 designed and tested polymorphic are reported here.

Tissue samples collected from the patagium of each bat were stored in an ambient temperature storage buffer (Longmire *et al.* 1992) from 37 *R. madagascariensis* individuals representing one roost site. Genomic DNA was isolated using standard protocols (Sambrook *et al.* 1989). PCR amplification was carried out in a 25 µl reaction volume using an MBS thermocycler (Thermo Electron Corporation, Milford, MA) with approximately 50 ng of genomic DNA template. Final amplification conditions consisted of 12.5 pmol unlabelled reverse primer, 12.5 pmol fluorescently labeled forward primer, 1.5 mM MgCl₂, 200 µM each dNTP, and 0.5 units of Taq DNA polymerase (Promega; Madison, WI). The thermal profile for PCR amplification was 95 °C for 5 min, followed by 35 cycles of 95 °C for 30 s, a primer-specific annealing temperature for 30 s (Tableau 5.1), 72 °C for 30 s, ending with a single extension of 72 °C for 10 min. Allele sizes were determined by separation of the PCR products via POP 4 capillary buffer electrophoresed in an ABI 3100 DNA Analyzer (Applied Biosystems, Inc; Foster City, CA). Fragment length genotypes were assigned by GeneScan (Applied Biosystems, Inc.) using GeneScan 500 [Tamra] size standard. Loci characterizations are presented in Tableau 5.1.

The data set was analyzed for errors using MICROCHECKER (Van Oosterhaut *et al.* 2004) and MSA (Dieringer and Schlötterer 2003). Null alleles and polymorphic information content (PIC) were estimated using CERVUS v.2.0 (Marshall *et al.* 1998; Slate *et al.* 2000). Marker independence was tested following a Bonferroni correction for multiple tests in FSTAT using the linkage disequilibrium option (Goudet 1995, 2001) before population genetic parameters were estimated using Genepop 4.0 (Raymond and Rousset 1995) and FSTAT (Tableau 5.2). Six of the loci showed departure from HWE owing to a deficit of heterozygotes. This deficit was diagnosed in MICROCHECKER and CERVUS as high frequencies (freq>0.10) of null alleles in this population. The number of alleles ranged from 7 to 19 and informativeness, interpreted from polymorphic information content (PIC), ranged from 0.757 to 0.916 (66HDZ106 and 66HDZ337 respectively for both parameters). This marker suite should be useful in population genetic studies comparing *Rousettus madagascariensis* across the island of Madagascar.

Tableau 5. 1 : Primer sequences with fluorescent dye labels, optimized annealing temperature, locus characteristics, and GenBank accession numbers of 22 *Rousettus madagascariensis*—specific microsatellite loci

Locus	Primer Sequence (5' to 3')	Temp (°C)	Repeat Motif	PIC	Size Range	GenBank Accession.
66HDZ20	F : HEXTCC CCC TCT CTC CGA CTC R : CCT GCG TTT TCT GTT CTG G	62	(GT) ₂₀	0.843	194-216	EU883996
66HDZ 80	F : HEXGGC TAT CAA GGG AAG GGT G R : GGG AAG ACA GCA ATA ACA ACC	58	(GT) ₁₄	0.866	172-216	EU883997
66HDZ82	F : FAMTCT CTC AAT GCC CGT CCT C R : CAC TTT CAA ATG CCC TGC TC	60	(CA) ₂₆	0.898	237-273	EU883998
66HDZ91	F : FAMGAC TTT GCT TCT TTC AGA TAC CA R : GAG GA GAC AGA GTT TTC CCT TTA	62	(CA) ₂₁	0.901	125-173	EU883999
66HDZ95	F : HEXCAG GAT TTA TTA CCC CGC C R : GCT GTG ACC ACT CTG CCC	60	(CA) ₂₀	0.873	245-275	EU884000
66HDZ105	F : HEXGAA AGA CCA GAA TCC TCA AAA TG R : TGA TAA CAA GTG GAA AAA AAT AAA GTA G	58	(CA) ₁₃	0.863	190-220	EU884001
66HDZ106	F : HEXTTT GTT TGT TTT ATG TTT TTT TGC R : TGT TCC TTT TTA GCA TCT CCA G	56	(CA) ₂₁	0.757	171-189	EU884002
66HDZ110	F : HEXCTT TGG TTT TCT GTG TTT CTG C R : CAG GGA ATA GGG TGT CTT TGA	54	(GT) ₂₄	0.877	177-291	EU884003
66HDZ117	F : FAMTTT GTC TTT TCA TCT CTC TAT CCC R : TTT TTG TGC CAG AAT ACT TTG AC	60	(CA) ₁₈	0.808	165-197	EU884004
66HDZ139	F : FAMCCA TAG CCA TCT CTC CTT CC R : TGT TGG GTA TTT CTG GTT TGG	56	(CA) ₂₆	0.849	105-135	EU884005
66HDZ304	F : FAMCAC TAT GAT GAA GGG GAG GG R : GGT CAG TCA GGG GAG GAA C	62	(GT) ₂₂		157-179	EU884006
66HDZ311	F : FAMGCC AAA TCT CTC ATC TTC AGC R : CAA TAG GAA AAA CAG CAA GGA G	60	(CA) ₂₈	0.886	174-216	EU884007
66HDZ327	F : HEXACG TCT GTC CCC ACT ATT GC R : GAA CCC GAG AGA GCA GGC	50	(GT) ₃ (GT) ₁₉	0.88	149-173	EU884008
66HDZ334	F : ATA ATG AAT CAC GAC AGA ACG AG R : CTA CAA CAG GCT TTG GGC A	60	(CA) ₁₇	0.884	173-197	EU884009
66HDZ337	F : FAM TGA AGC AGA ACC AAG ATA GGG R : GTG GGA GAG ACG GCG TG	54	(CA) ₂₇	0.916	169-203	EU884010
66HDZ339	F : HEXAGG AAA GAC TCC AAA AGA CAA TG R : GGA AAA AGC AAA TCT CGT ATG TT	58	(CA) ₂₄	0.86	153-179	EU884011
66HDZ340	F : HEXCCA CCC TGT TTG GTC CC R : TCC CCC TCC TCT GTT TCC	60	(CA) ₁₄	0.851	136-152	EU884012
66HDZ341	F : FAMCAA GCA TAC AAA GTG GGG A R : ATG TCA TCT GTC TCT GAA ATG G	58	(CA) ₉ CG (CA) ₁₃	0.811	231-257	EU884013
66HDZ343	F : HEXCCA CCC ATC TTG GCT TCT R : CGA TAG GTA ATC ATA GGA ACG AA	58	(CA) ₂₂	0.88	114-140	EU884014
66HDZ361	F : HEXGGT TTT GTC CCC CAG CC R : CAG AAG CCC CAG CAC AGT C	60	(CA) ₁₅	0.856	181-205	EU884015
66HDZ407	F : FAMACC CAG GAC GGC ATC AC R : CTC TTC GGC TTC CAC TTA GG	56	(GT) ₂ (GA) ₃ (GT) ₁₅	0.765	142-162	EU884016
66HDZ413	F : FAMATG CCC TTA GCA CTG GAC A R : TAA ATG TTT GTG TGT GGA GGT G	54	(CA) ₂₁	0.845	202-226	EU884017

Tableau 5. 2 : Number (k) of alleles detected, allelic richness (A.R.), observed (Ho) and expected (He) heterozygosities, P-values and standard errors (SE) for Hardy–Weinberg Exact Tests (HWE), and among 22 microsatellite loci screened across a population of 37 individuals of *Rousettus madagascariensis* from southeastern Madagascar

	k	Ho	He	P ^a	SE.	A.R.
66HDZ20	10	0.568	0.871	0.0003**	0.351	09.946
66HDZ80	12	0.838	0.89	0.371	0.059	11.941
66HDZ82	16	0.892	0.917	0.6647	0.028	15.935
66HDZ91	18	0.784	0.921	0.0525	0.151	17.723
66HDZ95	12	0.703	0.896	0.009**	0.218	11.939
66HDZ105	13	0.784	0.887	0.1327	0.118	12.941
66HDZ106	07	0.541	0.793	0.0008**	0.322	6.998
66HDZ110	16	0.892	0.898	0.5789	0.006	14.937
66HDZ117	11	0.811	0.84	0.7725	0.036	10.836
66HDZ139	11	0.611	0.875	0.0001**	0.305	10.972
66HDZ304	13	0.778	0.873	0.088	0.11	12.916
66HDZ311	17	0.865	0.907	0.2967	0.047	16.621
66HDZ327	13	0.943	0.902	0.3505	-0.046	13
66HDZ334	13	0.946	0.905	0.6746	-0.046	12.944
66HDZ337	19	0.595	0.934	0**	0.366	18.777
66HDZ339	12	0.811	0.886	0.4712	0.086	11.833
66HDZ340	12	0.703	0.877	0.1759	0.201	11.784
66HDZ341	12	0.676	0.837	0.0143**	0.195	11.89
66HDZ343	13	0.757	0.903	0.2072	0.164	12.836
66HDZ361	13	0.703	0.881	0.0114	0.204	12.838
66HDZ407	11	0.838	0.799	0.52	-0.05	10.836
66HDZ413	11	0.784	0.872	0.8063	0.102	10.89

* Null allele frequency detected > 0.10

^a Probability of satisfying Hardy Weinberg Expectations following X^2 test. Monte Carlo Markov Chain parameters : 100 batches and 5,000 iterations per batch

5.1.2. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to acknowledge the generosity of Bill and Berniece Grewcock for their support of student interns. This research was also supported by grants from the Ahmanson Foundation, which have provided the laboratory with three ABI automated DNA sequencers. We graciously thank the Theodore F. and Claire M. Hubbard Family Foundation for supporting Henry Doorly Zoo/Madagascar Biodiversity and Biogeography Project. This project would not have been possible without the support of the staff, guides, drivers, and porters of Madagasikara Voakajy (Madagascar). The Association Nationale pour la Gestion des Aires Protégées (ANGAP) and the Ministère des Eaux et Forêts, Madagascar, provided us the research authorization; FFI and

Disney Wildlife Conservation Fund granted the field expedition during the tissues sample collection. We thank George P. Emodi for PCR assistance.

5.1.3. REFERENCES

- Bergmans W (1990) Taxonomy and biogeography of the African fruit bats (Mammalia Megachiroptera). 3. The genera *Scotonycteris* Matchie, 1984, *Casinycteris* Thomas, 1910, *Pteropus* Brisson, 1762, and *Eidolon* Rafinesque, 1815. *Beaufortia* 40(7) :111–177
- Dieringer D, Schlötterer C (2003) Microsatellite analyzer (MSA) : a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Mol Ecol Notes* 3 :167–169. doi :10.1046/j.1471-8286.2003.00351.x
- Goudet J (1995) FSTAT, a computer program to test F-statistics. *J Hered* 86 :485–486
- Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Updated from Goudet (1995)
- Hillis DM, Mable BK, Larson A et al (1996) Nucleic acids IV : sequencing and cloning. In : Hillis DM, Moritz C, Zimmer EA (eds) *Molecular systematics*, 2nd edn. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, pp 321–381
- IUCN (1999) 1999 IUCN Red List of threatened species. World Conservation Union, Gland
- Juste JB, Alvarez Y, Tabares E et al (1999) Phylogeography of African Fruit Bats (Megachiroptera). *Mol Phylogenet Evol* 13(3) :596–604. doi :10.1006/mpev.1999.0669
- Kandpal RP, Kandpal G, Weissman SM (1994) Construction of libraries enriched for sequence repeats and jumping clones, and hybridization selection for region-species markers. *Proc Natl Acad Sci USA* 91 :88–92. doi :10.1073/pnas.91.1.88
- Kulzer E (1956) Flughunde erzeugen Orientierungslaute durch Zungenschlag. *Naturwiss* 43 :117–118. doi :10.1007/BF00600896
- Longmire JL, Gee GF, Hardekoff CL, Mark GA (1992) Establishing paternity in whooping cranes (*Grus americana*) by DNA analysis. *Auk* 109 :522–529
- Marshall TC, Slate J, Kruuk LEB, Pemberton JM (1998) Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol Ecol* 7(5) :639–655. doi :10.1046/j.1365-294x.1998.00374.x
- Moraga-Amador D, Farmerie BA, Brazeau D, Clark G (2001) Tools for developing molecular markers. Interdisciplinary center for biotechnology research laboratory manual. The University of Florida Gainesville, Florida, pp. 11–65

- Novock A (1958) Orientation in Paleotropical bats. II. Megachiroptera. *J Exp Zool* 137 :443–459. doi :10.1002/jez.1401370305
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2) : population genetics software for exact tests and ecuminicisms. *J Hered* 86 :248–249. Available : <http://wbiomed.curtin.edu.au/genepop/>
- Sambrook J, Fritch EF, Maniatus T (1989) *Molecular cloning : a laboratory manual*, 2nd edn. Cold Spring Harbor Press, New York
- Slate J, Marshall TC, Pemberton JM (2000) A retrospective assessment of the accuracy of the paternity inference program CERVUS. *Mol Ecol* 9(6) :801–808. doi :10.1046/j.1365-294x.2000.00930.x
- Van Oosterhaut C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004) MICRO-CHECKER : software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol Ecol Notes* 4 :535–553. doi :10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x

SOUS-CHAPITRE V-II : POPULATION GENETICS OF *Rousettus madagascariensis*

5.2.1. RESUME

Nous avons utilisé 18 loci de microsatellites pour étudier la génétique des populations de 8 localités d'échantillonnage d'une espèce de chauves-souris frugivore endémique malgache (*Rousettus madagascariensis*). Les résultats montrent une faible différence génétique entre sept des huit sites. En se basant sur les valeurs de F_{ST} (coefficient de différenciation génétique), les échantillons de Cap Diégo (au Nord de Madagascar) manifestent des différences génétiques significatives comparées à quatre autres sites d'échantillonnage, à savoir Anjohibe (Nord-ouest), Anosibe An'Ala (est), Bemaraha (Ouest) et Mahavavy Kinkony (Nord-ouest). La distribution et la dispersion de *R. madagascariensis* ne sont pas affectées par les différences climatiques et d'habitat qui ont été invoquées chez certaines espèces animales comme étant de potentielles barrières aux flux génétiques. On observe par ailleurs dans cette espèce une absence de relation entre distance géographique et distance génétique. Les causes possibles de cette structure de population constituée par des colonies qui sont réparties de manière homogène (panmictique) sont discutées.

ABSTRACT

We used 18 microsatellite loci to compare the population genetics of eight sampling localities of an endemic Malagasy fruit bat species (*Rousettus madagascariensis*). The results showed minimal genetic differentiation among seven sampling sites. Based on the F_{ST} values the Cap Diégo (north of Madagascar) samples exhibited significant genetic differentiations compared to four distant sampling sites : Anjohibe (north-west), Anosibe An'Ala (east), Bemaraha (west) and Mahavavy Kinkony (north-west). The distribution and dispersal of *R. madagascariensis* appeared unaffected by climatic and vegetational differences that have been invoked for other animals as barriers to gene flow. No statistically significant correlation was found between geographic and genetic distance. Possible reasons for such a panmictic population structure are discussed.

Key words : bat, gene flow, genetic diversity, population genetics, *Rousettus madagascariensis*

5.2.2. INTRODUCTION

Rousettus madagascariensis is endemic to Madagascar, which is approximately 1,600 km long and 600 km wide. The distribution of this species encompasses both the humid east and the drier west; it can be found in areas with forest and caves (Goodman 1998, 1999). This species is found primarily at lower elevations and appears to be absent from the Central Highlands and the arid south and southwest (Goodman 2011), although individuals have been caught in the semi-arid transition zone in Andohahela National Park (Goodman 1999). It is the smallest of the three Pteropodidae fruit bats in Madagascar, with a forearm length of 6.5-7.5 cm and weighs 50-80 g (MacKinnon *et al.* 2003). Living in colonies that vary from hundreds to several thousand individuals, *R. madagascariensis* makes its day roost sites in relatively dark and humid natural caves (MacKinnon *et al.* 2003; Cardiff 2006). Although this species is able to survive in degraded areas by feeding on introduced and cultivated fruits (Goodman 1999; Goodman *et al.* 2005; Andrianaivoarivelo *et al.* 2007), its conservation status is “Near Threatened” because of high hunting pressure and degradation of native forest vegetation in and around foraging and roosting sites (Andriafidison *et al.* 2008).

The flight capacity of pteropodids allows them to cover large distances and to cross different landscapes (ex. rivers, savanna, etc...), which constitute physical barriers for other non-flying mammals (Norberg and Rayner 1987; Gannon 2007; Bachmann *et al.* 2000). Bernard and Fenton (2003) demonstrated that savannas do not inhibit the movement of some New World non-pteropodid fruit bat species that used forest fragments as foraging sites. They suggested that persistent biological gene flow may be maintained among isolated forest fragments. African *R. aegyptiacus*, can travel over 24 km per night from its day roosts to feeding sites (Jacobsen and du Plessis 1976), while *R. madagascariensis* from east central Madagascar has been observed to fly 11 km from roosts to banana plantations (Andrianaivoarivelo *et al.* 2011a).

Fruit bat species that disperse long distances would be expected to show low levels of genetic structure due to regular mixing of the gene pool. Richter and Cumming (2008) documented that male *Eidolon helvum* migrate annually up to 2,000 km across the African continent. Further, these authors showed that during periods of food scarcity, major colonies may in fact be aggregations of smaller colonies and this fission-fusion can take place rather quickly. An extreme case can be found in *Pteropus scapulatus*, which has a range exceeding 3.5 million km², and with pronounced seasonal migrations (Sinclair *et al.* 1996). Little genetic differentiation was apparent among populations of this species and extensive gene flow was evident between all

subpopulations. Similar results have been reported in *P. poliocephalus* and *P. alecto* (Webb and Tiedemann 1996).

Among populations of long-distance dispersing fruit bat species, genetic structure appears low, and seasonal movements is likely to be the prevailing influence. Tropical bat species may also migrate, frequently in response to the seasonal availability of food resources (Burland and Worthington Wilmer 2001). For sedentary species, however, an array of factors, including dispersal ability, extrinsic barriers to gene flow and historical events may determine the extent of genetic partitioning (Burland and Worthington Wilmer 2001). Levels of gene flow are not only dependent on the distance between populations, but may also be affected by the nature of the surrounding landscape between populations and by mating systems. *Cynopterus sphinx*, an Asiatic fruit bat, has variable *F*-statistic estimates between seasonal cohort groups thought to be reflective of the harem social structure within populations (Storz *et al.* 2001).

Goodman *et al.* (2010), based on a phylogenetic analysis of *Cytb* sequences from 131 samples of *R. madagascariensis* from 17 sites on the main island of Madagascar and near shore islands, found that populations display no measurable geographic structure. Similarly, these authors did not find any significant genetic differentiation on the basis of six microsatellite markers within the Madagascar sampling localities.

Because species such as *R. madagascariensis* are especially difficult to follow by direct observations, analyses of genetic marker can provide inferences on some aspects of their social life (e.g. roosting biology and sex-biased dispersal; McCracken *et al.* 2006). In this study, we describe genetic variation, the level of gene flow, and the population structure among eight sites occupied by *R. madagascariensis*. We reexamined Goodman *et al.*'s findings about the population structure of this species using a greater number of microsatellite markers.

5.2.3. MATERIALS AND METHODS

5.2.3.1. Study sites and samples.

Bats were captured with mist nets at eight sites across different portions of Madagascar (Figure 5.1) from the austral summer of 2006 to the austral winter of 2007. Animal capture, handling and release were done in accordance with the American Society of Mammalogists guidelines (Gannon *et al.* 2007) and with the approval of the Omaha's Henry Doorly Zoo Institutional Animal Care and Use Committee. Bats were captured in cave roost entrances at Mahavavy

Kinkony (Sofia Region), Anjohibe (Boeny Region), Bemaraha (Melaky Region), Tolagnaro (Anosy Region) and Sainte-Marie Island (Atsinanana Region). At three other locations bats were captured at feeding sites and their colony affinities are unknown; these sites include : Kianjavato (Vatovavy Fitovinany Region), Anosibe An'ala (Alaotra Mangoro Region) and Antsiranana “Cap Diégo” (Diana Region). The maximum linear distance between sampling sites was 1,400 km (Cap-Diégo-Tolagnaro) and the minimum distance was 125 km (Mahavavy Kinkony-Anjohibe). Eight, 2 mm wing punches were collected from each bat ($n = 271$ bats) and preserved in 20% DMSO, 5 M EDTA in saturated NaCl.

5.2.3.2. Molecular data.

Total genomic DNA was extracted by proteinase K digestion, phenol chloroform-isoamyl alcohol extraction, and ethanol precipitation following the standard procedure described by Sambrook *et al.* (1989). Simple Sequence Repeat (SSR) or microsatellite loci were utilized for the analysis of population structure, providing a means of accurately examining two important parameters in conservation biology : gene flow and relatedness (Michalakis and Excoffier 1996). Multilocus genotypes were generated using 18 informative microsatellite loci developed by Andrianaivoarivelo *et al.* (2008) for each of the 271 samples. Polymerase Chain Reaction (PCR) amplification was carried out following protocols developed by Andrianaivoarivelo *et al.* (2008). The departures from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) for all locality samples at each locus, the genetic diversity and average number of alleles per locus for each population were estimated in FSTAT 2.9.3 (Goudet 1995, 2001). Allele frequencies at each locus were also calculated for each sampling locality in FSTAT.

5.2.3.3. Population genetic analyses.

Genetic diversity for each population was estimated by observed (H_O) and expected heterozygosity (H_E), number of alleles, and allelic richness. To assess heterozygote deficiency, multilocus F_{IS} was tested by permutation using FSTAT version 2.9.3 for each sampling locality. Population structure was quantified by estimating differentiation between populations with F -statistics (Wright 1978). Pairwise F_{ST} were computed according to Weir and Cockerham (1984) and population differentiation was analyzed by randomizing multilocus genotypes between each pair of samples using FSTAT version 2.9.3. The F_{ST} semi-matrix was then used to test for isolation by distance. Following the recommendations of Rousset (1997) correlation was

examined by regressing $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ onto the log of geographic distance between each of the 8 sampling localities. Finally, we check the robustness of F_{ST} and isolation by distance calculations to variations in PCR amplification success, because it varied between loci (see below).

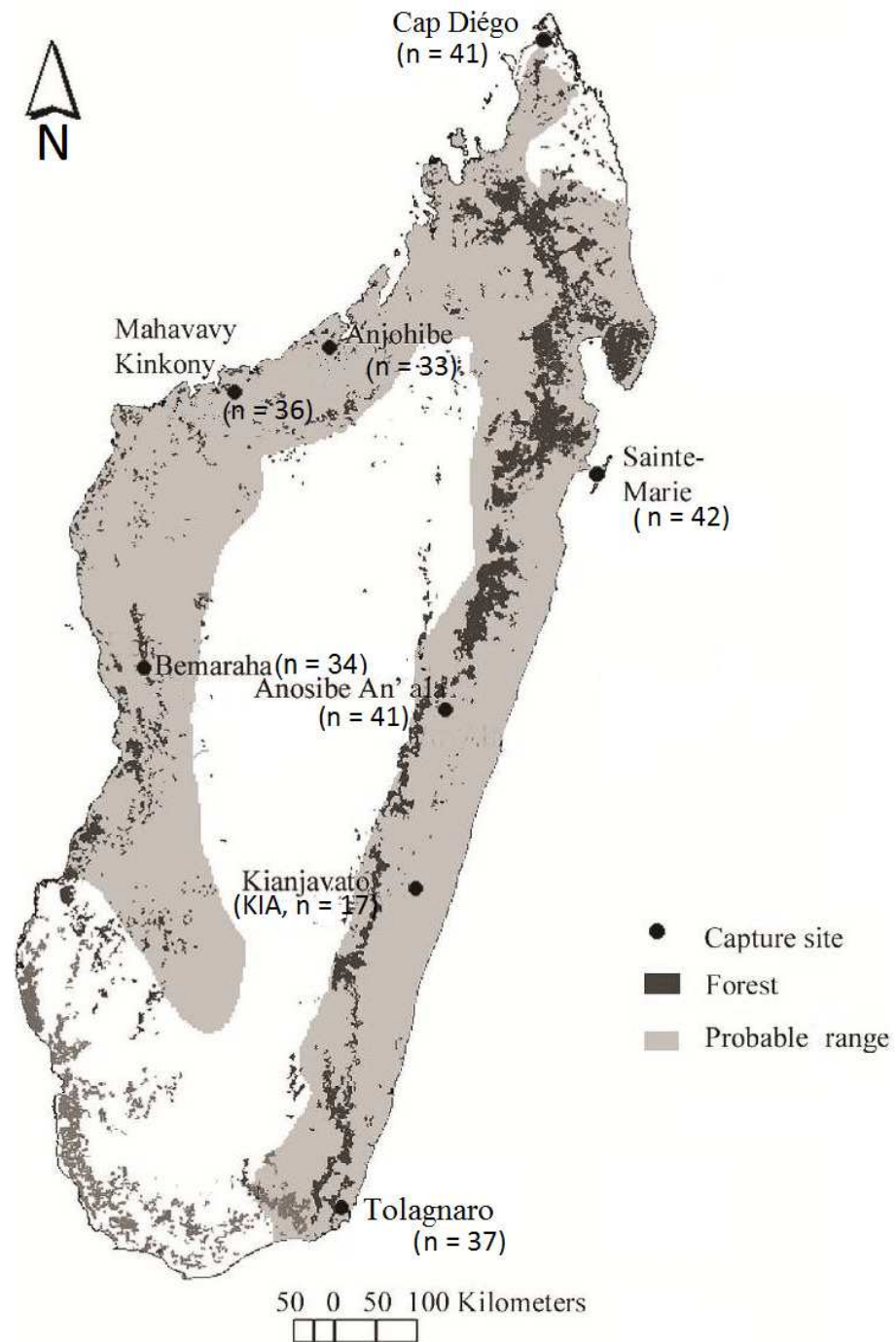


Figure 5. 1 : Eight sampling localities within this study; grey shading indicates the probable range of *Rousettus madagascariensis* (Garbutt 2007).

5.2.4. RESULTS

5.2.4.1. Microsatellite polymorphism and genetic variability.

A total of 286 alleles were detected among the 18 microsatellite loci in the eight *Rousettus madagascariensis* sampling localities (Tableau 5.3). Mean H_E was 0.873 and the mean number of alleles per locus was 15.89, with a range of 8 to 24, for 66HDZ106 and 66HDZ337, respectively. Thirteen over 18 loci deviated significantly from the HWE (Tableau 5.3), which may be due to amplification difficulties.

The mean genotyping efficiency was 0.982 and PCR amplification success rate were correlated with F_{IS} (Figure 5.2, $n = 18$, $R^2 = 33.9\%$, $P < 0.001$), with low F_{IS} value related to high PCR amplification success (ANOVA : $df = 1$, $F = 8.203$, $P = 0.011$; Figure 5.2) and above 10 percent null allele detected. This relationship is expected if amplification difficulties lead to misassigned genotyped, with some samples not amplifying at all (low PCR amplification success) and others appearing as homozygotes while they are heterozygotes. The more difficult it is to amplify a locus the more is a heterozygote deficit.

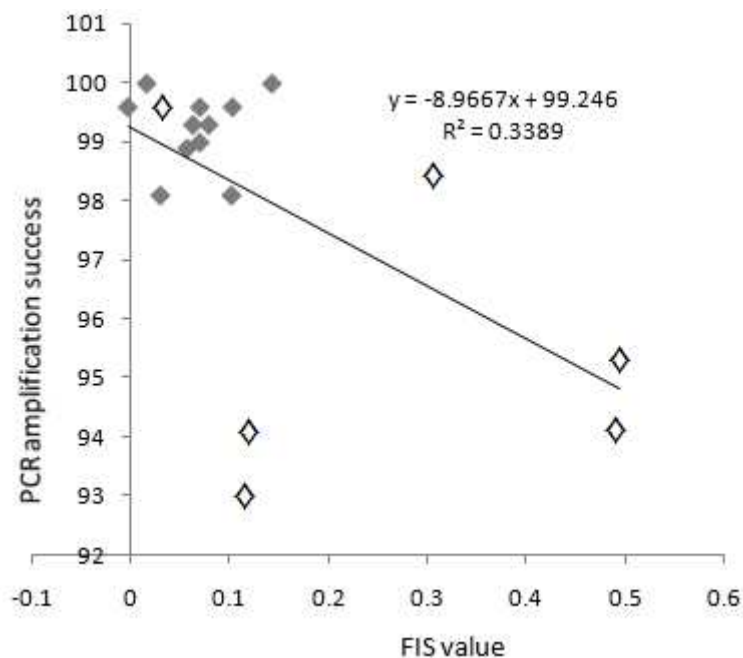


Figure 5.2 : Negative relationship between PCR amplification success rate and F_{IS} . Open lozenge indicates loci with detected null alleles (Andrianaivoarivelo *et al.* 2008).

Tableau 5. 3 : Summary of population genetic parameter estimates : Expected (H_E) heterozygosities, Allelic richness (All_AR)? mean allelic richness per site (Mean_AR), individual (F_{IS}) and overall (F_{ST}) degree of genetic differentiations and the percent of the polymerase chain reaction (PCR) success, generated from 18 microsatellite loci of *Rousettus madagascariensis* for the 8 sampling localities. Asterisks indicate loci with detected null alleles (Andrianaivoarivelo *et al.* 2008).

Locus	H_E	All_AR	Mean_AR	Fis	P (Fis = 0)	Fst	P (Fst = 0)	PCR success
FR20*	0.849	9.004	8.227	0.493	0.0001	0.0150	0.0004	94.1
FR80	0.879	11.225	10.661	0.07	0.0019	0.0090	0.0028	99.0
FR82	0.906	12.246	11.988	0.032	0.0615	0.0070	0.0579	99.6
FR91	0.929	14.356	14.177	0.102	0.0001	-0.0020	0.3868	98.1
FR95*	0.873	9.595	9.394	0.114	0.0001	0.0000	0.6314	93.0
FR105	0.884	11.265	11.012	0.103	0.0001	0.0040	0.3469	99.6
FR106*	0.813	6.560	6.550	0.119	0.0001	0.0000	0.5595	94.1
FR110	0.897	11.564	11.300	0.034	0.0555	0.0050	0.3781	99.6
FR117	0.840	8.708	8.579	0.057	0.0166	0.0010	0.3879	98.9
FR139*	0.874	9.226	8.618	0.494	0.0001	0.0070	0.0353	95.2
FR304	0.875	10.072	10.007	0.079	0.0007	0.0020	0.4949	99.3
FR334	0.906	11.339	11.394	0.063	0.0018	-0.0010	0.9041	99.3
FR337*	0.931	13.929	13.425	0.307	0.0001	-0.0010	0.2851	98.5
FR339	0.867	9.383	8.801	-0.003	0.5678	0.0060	0.0002	99.6
FR341*	0.847	10.028	9.998	0.07	0.0024	0.0120	0.1134	99.6
FR343	0.878	10.683	10.297	0.143	0.0001	0.0000	0.1224	100
FR361	0.847	10.012	9.735	0.016	0.2721	0.0160	0.0305	100
FR407	0.827	9.272	9.324	0.03	0.1368	-0.0030	0.7629	98.1

5.2.4.2. Genetic diversity among populations.

Because we found evidence for genotyping difficulties, all analyses of population structure were conducted on different sets of loci to check the robustness of the results. The following computations were thus performed with (see Table 5.3 and Fig. 5.2 for justification) : 1) all loci, 2) the 14 loci with amplification success above 96%, 3) the 11 loci with the best amplification

success (> 98,5%), 4) for comparison, the seven loci with the worst amplification success, and 5) the five loci that were at HWE.

There was a weak but significant genetic differentiation among all sampling localities ($F_{ST} = 0.004$, $P < 0.0001$). This result holds whatever the set of loci used for the computations. Pairwise F_{ST} showed that one site, Cap-Diégo, is isolated from the other sites, and in particular Anjohibe, Anosibe An'Ala, Bemaraha and Mahavavy Kinkony (Table 5.3 and tests of pairwise differentiation with the different sets of loci, data not shown). If Cap-Diégo is removed from the data set, F_{ST} is still significantly different from 0 with all sets of loci used.

We detected isolation by distance by regressing $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ on the logarithm of geographic distance (km) ($R^2 = 18.3\%$, $P = 0.027$, Tableau 5.4). However, the same test computed with the 14 or 11 loci that had high PCR amplification rate above 96% and 98,5% respectively, or the five loci at HWE showed no significant correlation between the two variables (R^2 ranged from 18% to 28% and $P > 0.16$). In contrast, the same calculus conducted with the seven loci with bad amplification success also resulted in a significant isolation by distance. Even when the geographic distances between the eight sample sites were computed by avoiding regions where the species is absent, we failed to detect any significant correlation between these variables ($0.001 < r^2 < 0.049$; $0.25 < P < 0.85$). Those results were not seemingly affected by the inclusion of the CapD sample.

Tableau 5. 4 : Pairwise F_{ST} (above diagonal) and geographic distances (log Distance : km), (below diagonal) among the eight *Rousettus madagascariensis* sampling sites.

Pop	Anjo-hibe	Anosibe An'Ala	Bemara-raha	Cap-Diégo	Tolagnaro	Kianjavato	Mahavavy Kinkony	Sainte-Marie
Anjohibe		0.0038	0.0003	0.0128	0.003	0.005	0.0032	0.0021
Anosibe An'Ala	6.1259		0.0004	0.0128	0.0024	-0.0017	0.0032	-0.0004
Bemaraha	6.0969	5.8949		0.0106	0.0058	0.0028	0.0018	0.0005
Cap-Diégo	6.0874	6.6821	6.7676		0.0095	0.0048	0.0159	0.0096
Tolagnaro	6.9271	6.4085	6.5184	7.2452		0.0014	0.0061	0.0005
Kianjavato	6.4777	5.3734	6.0395	6.9212	5.9630		0.0039	0.0004
Mahavavy Kinkony	4.8283	6.1370	5.8327	6.3133	6.8797	6.4514		0.0014
Sainte-Marie	5.8718	5.7446	5.7446	6.2948	6.8157	6.2497	6.1005	

5.2.5. DISCUSSION

Despite suitable lab procedures, we had difficulties with PCR amplifications. These difficulties remain unexplained. However, our results complement those obtained by Goodman *et al.* (2010). First, they confirm the observation of Goodman *et al.* that *R. madagascariensis* shows virtually no population genetic differentiation across its entire range. Our samples came from different localities and we employed an extended set of loci, and the results disclose a low overall F_{st} value (0.004). Adding to Goodman *et al.*'s results, and because our data set has more statistical power, we are able to show that populations of this species are not totally panmictic, as this F_{st} value was significantly different from zero. We also demonstrate that at least one population (Cap Diégo) show signs of relative isolation when compared to others. Finally, we tested a hypothesis that was not examined by Goodman *et al.* (2010), as they found absolutely no structure, namely that *R. madagascariensis* populations are isolated by distance. We did not find any sign of isolation by distance. This result is unlikely to be related to a lack of statistical power, as isolation by distance was found in seven loci in our data set. These loci had the lowest amplification success, and may have resulted in a spurious link between genetic and geographic distance. In fact, based on our data set with 18 loci, some of which amplified as anticipated, we were able to check using different sets of loci the robustness of our results. This procedure led to two conclusions : *R. madagascariensis* is significantly but weakly structured and shows no isolation by distance at the scale of its range.

It is probable that geographical factors other than ecological associations have modified the demographic histories of *R. madagascariensis* in the Cap Diégo area, at the far northern end of the island. A priori based on the “Peninsula Effect” (*sensu* Wiggins 1999), which predicts that the genetic diversity declines from a peninsula's base to its tip, it would be expected that Cap Diégo is genetically different from the other sampling sites. We suggest that low rates of immigration from the balance of Madagascar towards the Cap Diégo region, can explain the higher inbreeding coefficient. The resulting high extinction with low immigration rates did not balance the mutation drift equilibrium (MacArthur and Wilson 1963). Thus, the mechanism of low genetic diversity in Cap Diégo could be supposed as the result of reduced colonization towards the peninsular tip (compared to the other sites with much greater genetic diversity) is attributed to peninsular geometry (Taylor and Regal 1978), but is less easily controlled. Consequently, there might be a weak effective dispersal of individuals from only the south side of Cap Diégo through recent geological time. The immigration rates to this site might be reduced

by the absence of land around most of its boundaries (Baie Andovobatofofotsy in the north and Cul-de-Sac Gallois in the south) causing a reduction in connectivity with other populations that could serve as genetic source area (Means and Simberloff 1987; Wiggins 1999).

The first detailed population genetic study of *R. madagascariensis* revealed low levels of genetic differentiation (Goodman *et al.* 2010). The present study also suggests sustained gene flow among the eight sites sampled up to 1,400 km apart, except for CAPD. In bats, such a pattern has hitherto been observed in migratory species only (Burland and Worthington Wilmer 2001). These authors found that tropical bat species such as *R. madagascariensis* may also irregularly disperse in response to the seasonal availability of food resources (Richter and Cumming 2008). In this case, *R. madagascariensis* would be capable of long and sustained movements between different geographical portions of the island. Here we explore the mechanisms by which this might take place. The effects of very recent anthropogenic population fragmentation on genetic diversity could also be considered to explain the genetic diversity similarity between the samples but are typically difficult to demonstrate (Beaumont 1999; Chikhi and Bruford 2005).

The individuals of *R. madagascariensis* used in this study were captured at elevations below 1,200 m above sea level (asl). Even though bat surveys have been conducted on Madagascar up elevations of 1,875 m, *R. madagascariensis* is generally found at elevations below 720 m asl (Goodman 1996, 1999). Given the absence of this species at higher altitudes, especially in central Madagascar, we suggest that, irregular dispersal events do not occur across the Central High Plateau. East-west dispersal might occur across two low mountain passes, where the divides between the eastern and western sides of the eastern mountain chain is lower than the maximum known elevation of *R. madagascariensis*. The importance of these two passes for east-west dispersal across Madagascar has been discussed in detail for other organisms (Betsch 2000). The north-south aligned eastern chain of mountains is bisected by these two passes : 1) Mandritsara separating the northern massifs (ex. Tsaratanana, Anjanaharibe-sud and Marojejy) from massifs of the central portion of the island (ex. Ankaratra, Ibity, Itremo and Andringitra) and 2) Menarahaka falling between the Andringitra complex to the north and the Anosyenne Mountains to the south.

An alternative route of dispersal for *R. madagascariensis* could be along the east coast from Tolagnaro to Antsiranana then down the west coast (Figure 5.1). The capacity of these bat species to follow these different potential dispersal routes, would be closely associated with the

availability of daily shelters and plant foods available in cleared and cultivated habitats and riverine forest habitat.

Fruit bats Studies of continental Africa have shown that certain species can displace considerable distances during nightly foraging trips (Jacobsen and du Plessis 1976) and others show discrete migration patterns (Richter and Cumming 2008). Low food abundance can force bats to travel considerable distances and use temporary day roost sites, resulting in notable extensions of their typical foraging ranges (Lewis 1995), which in turn may decrease home roost fidelity (Albayrak *et al.* 2008). Trees and caves along dispersal corridors can serve as diurnal roosts for *R. madagascariensis* (Goodman *et al.* 2005). Although there is no evidence of it using trees as permanent roosts. In the western part of the island, the principal exposed geological strata are karstic limestone and associated caves providing roost sites could facilitate movement of bats between western and northern Madagascar.

The mating system of *R. madagascariensis* is poorly known and such details are important to better understand its dispersal system. If, for example, the mating period coincides with long flight distances associated with local food scarcity, this might facilitate random mating between geographically separated day roosts. Considerable fluctuations were noted amongst four colonies of *R. madagascariensis* in eastern Madagascar both during and outside the reproduction periods (Andrianainarivelo *et al.* 2011b). Other process such as, high birth rate and long-life spans, or social structure (inbreeding avoidance) or human disturbance of roosting and breeding colonies may force bats to find other distant suitable sites, resulting in a genetic material exchange (Eg. Korine *et al.* 2004). Consequently and lastly, banding or radio-tagging investigations designed to estimate the dispersal ability of individual bats would be worth carried out.

5.2.6. REFERENCES

- Albayrak, I., N. Afian and T. Yorulmaz. 2008. The natural history of the Egyptian fruit bat, *Rousettus aegyptiacus*, in Turkey (Mammalia : Chiroptera). Turkish Journal of Zoology 32 : 11–18.
- Andriaifidison, D., S. G. Cardiff, S. M. Goodman, A. M. Hutson, R. K. B. Jenkins, A. F. Kofoky, P. A. Racey, J. Ranivo, F. H. Ratrimomanarivo and H. J. Razafimanahaka. 2008. *Rousettus madagascariensis*. In IUCN 2009. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 15 June 2009.

- Andrianaivoarivelo, R. A., O. R. Ramilijaona and D. Andriafidison. 2007. *Rousettus madagascariensis* (Grandidier, 1928) feeding on *Dimocarpus longan* in Madagascar. African Bat Conservation News 11 : 3–4.
- Andrianaivoarivelo, A. R., G. D. Shore, S. M. McGuire, R. K. B. Jenkins, O. Ramilijaona, E. E. Jr. Louis and R. A. Brenneman. 2008. Characterization of 22 microsatellite marker loci in the Madagascar rousette (*Rousettus madagascariensis*). Conservation Genetics 10 : 1025–1028.
- Andrianaivoarivelo, A. R., O. R. Ramilijaona, P. A. Racey, N. Razafindrakoto and R. K. B. Jenkins. 2011a. Feeding ecology, habitat use and reproduction of *Rousettus madagascariensis* Grandidier, 1928 (Chiroptera : Pteropodidae) in eastern Madagascar. Mammalia 75 : 69-78.
- Andrianaivoarivelo, R. A., D. Andriafidison, C. Rahaingonirina, S. Raharimbola, A. A. Rakotoarivelo, O. R. Ramilijaona, P. A. Racey and R. K. B. Jenkins. 2011b. A conservation assessment of *Rousettus madagascariensis* (Grandidier, 1928, Pteropodidae) roosts in eastern Madagascar. Madagascar Conservation and Development. Madagascar Development and Conservation 6 : 78-82.
- Bachmann, L., Y. Rumpler, J. U. Ganzhorn and J. Tomiuk. 2000. Genetic differentiation among natural populations of *Lepilemur ruficaudatus*. International Journal of Primatology 21 : 853–864.
- Beaumont, M. A. 1999. Detecting population expansion and decline using microsatellites. Genetics 153 : 2013–2029.
- Bernard, E. and M. B. Fenton. 2003. Bat mobility and roosts in a fragmented landscape in central Amazonia, Brazil. Biotropica 35 : 262–277.
- Betsch, J. M. 2000. Types de spéciation chez quelques collemboles Symphypléones Sminthuridae (Aptérygotes) de Madagascar. In Diversité et endémisme à Madagascar (Lourenço W. R. and Goodman S. M. eds). Mémoires de la Société de Biogéographie, Paris. 295-306
- Burland T. M. and J. Worthington Wilmer. 2001. Seeing in the dark : Molecular approaches to the study of bat populations. Biological Review 76 : 389–409.
- Cardiff, S. G. 2006. Bat cave selection and conservation in Ankarana, northern Madagascar. Master's thesis, Columbia University, New York.
- Chikhi, L. and M. W. Bruford. 2005. Mammalian population genetics and genomics. in Mammalian genomics (A. Ruvinsky and J. Marshall Graves, eds.). CABI Publishers, London. 539–584.

- Gannon, W. L., R. S. Sikes and the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists. 2007. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy* 88 : 809–823.
- Garbutt, N. 2007. *Mammals of Madagascar : A complete guide*. A & C Black Publishers Ltd, London, UK.
- Goodman, S. M. 1996. Results of a bat survey of the eastern slopes of the Réserve Naturelle Intégrale d'Andringitra, Madagascar. In *A floral and faunal inventory of the eastern slopes of the Réserve Naturelle Intégrale d'Andringitra, Madagascar, with reference to elevational variation*. *Fieldiana : Zoology, new series*, 85 : 284–288.
- Goodman, S.M. 1998. Notes on the bats of the Reserve Speciale d'Anjanaharibe-Sud, Madagascar. In *a floral and faunal inventory of the results of a bat survey of Reserve Speciale d'Anjanaharibe-Sud, Madagascar : with reference to elevational variation*. *Fieldiana Zool.* 1496 : 223-226.
- Goodman, S. M. 1999. Notes on the bats of the Réserve Naturelle Intégrale d'Andohahela and surrounding areas of southeastern Madagascar. In *a floral and faunal inventory of the Réserve Naturelle Intégrale, Madagascar, with reference to elevational variation*. *Fieldiana : Zoology, new series* 94 : 1–9.
- Goodman, S. M., D. Andriafidison, A. R. Andrianaivoarivelo, S. G. Cardiff, E. Ifticene, R. K. B. Jenkins, A. F. Kofoky, T. Mbohoahy, D. Rakotondravony, J. Ranivo, F. Ratrimomanarivo, J. Razafimanahaka, V. Razakarivony and P. A. Racey. 2005. The distribution and conservation of bats in the dry regions of Madagascar. *Animal Conservation* 8 : 153–165.
- Goodman, S. M., L. M. Chan, M. D. Nowak and A. D. Yoder. 2010. Phylogeny and biogeography of western Indian Ocean *Rousettus* (Chiroptera : Pteropodidae). *Journal of Mammalogy* 91 : 593-606.
- Goodman S. M. 2011. *Les chauves-souris de Madagascar : Guide de leur distribution, biologie et identification*. Association Vahatra, Antananarivo.
- Goudet, J. 1995. FSTAT, a computer program to test F-statistics. *Journal of Heredity* 86 : 485–486.
- Goudet, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.

- Jacobsen, N. H. and E. du Plessis. 1976. Observation of the ecology and the biology of the cap fruit bat *Rousettus aegyptiacus leachi* in the eastern Transvaal. South Africa Journal of Science 72 : 270–273.
- Korine, C., J. Speakman and Z. Arad. 2004. Reproductive energetics of captive and free-ranging egyptian fruit bats (*Rousettus aegyptiacus*). Ecology 85 :220–230.
- Lewis, S. E. 1995. Roost fidelity of bats : A review. Journal of Mammalogy 76 :481–496.
- MacArthur R. H. and E. O. Wilson. 1963. An equilibrium of insular zoogeography. Evolution 17 : 373–387.
- MacKinnon, J. L., C. E. Hawkins and P. A. Racey. 2003. Pteropodidae, fruit bats, *fanihy*, *angavo*. Pp. 1299–1302 In The natural history of Madagascar (S. M. Goodman and J. P. Benstead, eds.). University of Chicago Press, Chicago.
- McCracken, G. F., L. F. Lumsden and T. H. Kunz. 2006. Roosting ecology and population biology. Pp. 179–184 In Functional and evolutionary ecology of bats (A. Zubaid, G. F. McCracken and T. H. Kunz, eds.). Oxford University Press, New York.
- Means, D. B. and D. Simberloff 1987. The peninsula effect : Habitat-correlated species decline in Florida's herpetofauna. Journal of Biogeography 14 : 551-568.
- Michalakis, Y. and L. Excoffier. 1996. A generic estimation of population subdivision using distance between alleles with special reference to microsatellite loci. Genetics 142 : 1061–1064.
- Norberg, U. M. and J. M. V. Rayner. 1987. Ecological morphology and flight in bats (Mammalia : Chiroptera), wing adaptations, flight performance, foraging strategy and echolocation. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences 316 : 337–419.
- Richter, H. V. and G. S. Cumming. 2008. First application of satellite telemetry to track African straw-colored fruit bat migration. Journal of Zoology 275 : 172–176.
- Rousset, R. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. Genetics 145 : 1219–1228.
- Sambrook J., E. F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. Molecular cloning : A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.
- Sinclair, E. A., N. J. Webb, A. D. Marchant and C. R. Tidemann. 1996. Genetic variation in the little red flying-fox *Pteropus scapulatus* (Chiroptera : Pteropodidae) : Implications for management. Biological Conservation 76 : 45–50.

- Storz, J. F., H. R. Bhat and T. H. Kunz. 2001. Genetic consequences of polygyny and social structure in an Indian fruit bat, *Cynopterus sphinx*. I. Inbreeding, outbreeding and population subdivision. *Evolution* 55 : 1215–1233.
- Taylor, R. J. and P. J. Regal, 1978. The peninsular effect on species diversity and the biogeography of Baja California. *The American Naturalist* 112 : 538–593.
- Webb, N. J. and C. R. Tiedemann. 1996. Mobility of Australian flying-foxes, *Pteropus* spp. (Megachiroptera) : Evidence from genetic variation. *Proceedings of the Royal Society of London Series B. Biological Sciences* 263 : 497–502.
- Weir, B. S. and C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38 : 1358–1370.
- Wiggins, D. A. 1999. The peninsula effect on species diversity : Reassessment of the avifauna of Baja California. *Ecography* 22 : 542–547.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the genetics of populations*, Vol. 4 : Variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago.

CHAPITRE VI : ETUDE MORPHOLOGIQUE ET PHENOLOGIE DE LA REPRODUCTION CHEZ *Rousettus madagascariensis*

6.1. RESUME

Nous avons examiné les différences morphologiques et la phénologie de la reproduction à partir de 3198 individus de *Rousettus madagascariensis* capturés à travers cinq zones géographiques (Est, Nord, Nord-ouest, Ouest et Sud-est) et quatre intervalles d'altitude (0-300 m, 301-500 m, 501-1000 m, > 1000 m) à Madagascar de janvier 2001 à février 2010. Les mesures d'avant-bras et de masse corporelle ont mis en évidence l'existence de dimorphisme sexuel. La masse corporelle a encore révélé une variation saisonnière. Elle a relevé aussi des morphologies différentes selon les sites géographiques et l'altitude. Les colonies de l'Est et d'altitude (>500 m) tendent à avoir une masse corporelle supérieure à celles de basse altitude situées à l'Ouest, au Nord et au Nord-ouest de Madagascar et leur avant-bras est moins long que dans les autres sites. Ces différences phénotypiques sont en contradiction avec les résultats des analyses moléculaires effectués auparavant qui concluaient que les différences génétiques issues des ADN microsatellites entre les colonies géographiquement distantes sont insignifiantes. Notons que les échantillons étudiés sont pris dans les mêmes sites pour les études génétiques et morphométriques. Les résultats des sex-ratios montrent un excès de mâles adultes lors des captures. C'est surtout le cas des individus capturés au niveau des gîtes. Chez les jeunes, les mâles sont en plus faible proportion que les femelles, ce qui suggère qu'ils sont soit capables d'éviter les pièges de capture soit partent avant ou après les heures de capture ou encore se dispersent avant d'être sexuellement matures. Les caractéristiques reproductives des femelles dans tous les sites indiquent que la gestation commence vers la fin de la saison sèche et se termine vers le début de la saison humide, la mise-bas ayant lieu au début de la saison humide. La lactation se déroule pendant la saison humide et les jeunes après le sevrage se développent au cours de la saison sèche. Néanmoins quelques femelles allaitantes ont été observées pendant la saison sèche au Nord-ouest de Madagascar.

6.2. INTRODUCTION

Des études de la génétique des populations de *Rousettus madagascariensis* ont conclu à une structure de population panmictique dans la plus grande partie de l'île (Goodman et al. 2010), ou en tout cas à une très faible structuration génétique (Chap. V), avec un ensemble de populations qui échangent du matériel génétique de façon continue, soit parce que la dispersion est très importante, soit parce que les accouplements ont lieu entre individus de colonies différentes (ces deux mécanismes pouvant coexister).

Rousettus madagascariensis occupe pourtant des habitats très variés et son aire de répartition couvre une large de gamme de latitudes et de longitudes à l'échelle de Madagascar, et il apparaît donc pertinent de s'intéresser à de potentielles variations morphologiques en dépit de l'absence de structuration génétique. Elle est endémique à Madagascar et largement distribuée dans la plus grande partie du pays. Cette espèce reste rare ou absente dans les aires montagneuses centrales et les zones Sud-ouest arides de l'île (MacKinnon et al. 2003 ; Goodman et al. 2005). Etant donnée sa large distribution, ce relativement petit frugivore a été décrit comme une espèce ayant une capacité de dispersion importante (Goodman et al. 2010). Récemment, on a constaté que la plus haute altitude occupée par les colonies est inférieure à 1100 m (Grotte de Maromizaha : Andrianaivoarivelo et al. 2011).

La présence d'autres espèces de *Rousettus* à haute altitude en dehors de Madagascar (Elangovan et al. 2002) laisse penser que la distribution et les mouvements de *R. madagascariensis* pourraient être contraints par la disponibilité en ressources, qui est aussi influencée par le climat. La capacité de *R. madagascariensis* à réaliser de longs vols nocturnes (Andrianaivoarivelo et al. 2011), à s'adapter à différentes conditions climatiques, et à ajuster son régime alimentaire en fonction des espèces de plantes (à fruits ou à fleurs exotiques) présentes dans le milieu pourrait expliquer sa présence en basse ou moyenne altitude. (Goodman 1999 ; Andrianaivoarivelo 2007). Ces éléments nous amènent à penser que cette espèce est sans doute capable d'adaptation locale malgré les forts flux de gènes, et nous avons entrepris d'examiner si des variations morphométriques différencient les colonies des sites d'études. 3198 individus mâles et femelles de *R. madagascariensis* ont fait l'objet d'une étude morphométrique. dans le but de déterminer si les groupes d'individus situés à différentes altitudes et sites géographiques sont morphologiquement similaires.

Selon Racey et Entwistle (2000), les chauves-souris tendent à avoir une reproduction périodique au cours de l'année qui varie suivant la période de gestation et le cycle climatique annuel et saisonnier. Le cycle de reproduction de *R. madagascariensis* à l'Est de Madagascar a été décrit comme synchronisé et uni-modal (Andrianaivoarivelo et al. 2011), mais ces données sont encore très parcellaires. Nous avons donc profité de l'échantillonnage réalisé pour compléter les connaissances sur la phénologie de la reproduction d'où la répartition par classe d'âge et de sexe de *R. madagascariensis* sur différents sites géographiques et à différente saison a été examinée.

6.3. METHODOLOGIE

6.3.1. Site d'étude

Les captures de *Rousettus madagascariensis* ont été réalisées entre janvier 2001 et février 2010 par les membres de différents projets (Association Madagasikara Voakajy ; Association Vahatra, « Ecology Training Program » un programme de WWF-Madagascar; Lamin'Asa Fiarovana Ramanavy) sur 14 sites de capture. Les zones d'étude sont présentées dans la Figure 6.1.

Les habitats de capture à Madagascar ont été répartis en neuf catégories suivant la végétation et le type du sol : habitat à arbres introduits (*Eucalyptus*), à forêt humide sempervirente dégradée, à forêt humide sempervirente largement intacte, à forêt sèche caducifoliée dégradée, à forêt sèche caducifoliée largement intacte, à forêt de *tsingy* (formation calcaires du Nord et Nord-ouest), à formation secondaire (de l'Est ou de l'Ouest); Gîte (Grotte) ; et terrain d'agriculture (avec des arbres fruitiers). Les périodes de capture ont été réparties au cours de la saison sèche et la saison des pluies (voir ci-dessous).

6.3.2. Capture et regroupement des échantillons

Des filets japonais ont été utilisés pour la majorité des captures, mais le piège harpe (« harp trap ») a été utilisé dans certain cas (Goodman et al. 2005). Hormis les captures à l'entrée des grottes, nous avons installé le matériel de capture dans les sites d'alimentation et les lieux de passage des chauves-souris (pistes, clairières dans la forêt, cours d'eaux). Les filets japonais sont en nylon noir et mesurent 6, 9 ou 12 m de long et 2 m de haut. La liste des sites de capture, leurs coordonnées GPS et les altitudes correspondantes sont résumées dans le Tableau 6.1.

Afin de mieux analyser les jeux des données morphométriques chez les adultes de *R. madagascariensis* entre les différents sites de capture, on a établi deux types de regroupement des données en fonction de l'emplacement du site de capture : i) Les sites sont regroupés ensembles quand ils se trouvent les uns par rapport aux autres à une distance de moins de 100 km à vol d'oiseau. Ainsi, les 14 sites de capture à Madagascar, ont été classés dans six regroupements suivant leur situation géographique allant du nord au sud (Nord, Nord-ouest, Nord-est, Ouest, Est, et Sud-ouest, Figure 6.1 ; Tableau 6.1). Ce type de regroupement a été aussi adopté pour les analyses de la reproduction de cette espèce à travers tous les sites de capture ; ii) ces 15 sites de captures sont aussi regroupés dans trois sites biogéographiques appartenant à deux régions biogéographiques malgaches (Chaperon et al. 1993 ; Rajeriarison 1996) : deux sites sont inclus dans la région biogéographique de l'Ouest (sites biogéographiques du Nord-ouest et de l'Ouest) et un site dans celle de l'Est.

A travers la côte orientale de Madagascar, il y a un gradient d'altitude abrupt de la mer vers l'intérieur (Ouest). La pente entre le bord oriental du Haut Plateau central (800 à 1000 m) et la zone côtière est abrupte, ce qui constitue l'escarpement oriental (falaise d'Angavo). La pente orientale de l'île vers le Haut Plateau central est notamment plus raide et plus réduite en superficie que la pente du Haut plateau central vers l'Ouest (Goodman et Ganzhorn 2004).

6.3.3. Détermination du sexe, étude de la reproduction et mensurations

Un pénis notable permet la reconnaissance des mâles. La distension des épидидymes et des testicules volumineux indépendants de la saison ont été utilisés comme critères de la maturité sexuelle des mâles. Les mâles avec des testicules extra-abdominaux et les femelles allaitantes, post-allaitantes ou gestantes sont classés comme des individus sexuellement adultes ou en phase de reproduction (Racey 1988). Les mois et années de captures sont repertoriés dans l'annexe 7.

Chez les femelles en gestation, la distension de l'abdomen provoquée par le fœtus se développant peut être manuellement détectée. La détection est faite par apposition du pouce et de l'index au niveau de la région lombaire de la femelle. Cette détermination a été effectuée pour les chauves-souris qui ont quitté leur gîte et n'étaient pas encore alimentées. Un fœtus en tant que tel ne peut pas être détecté mais le degré de la tension et de la résistance à une pression indique un utérus en gonflement (Heideman et Utzurrum 2003). Pendant la lactation, les mamelons se développent et du lait peut être expulsé en massant doucement les glandes mammaires (Kunz et al. 1983). La présence de femelles avec le nouveau-né s'attachant à elle par le muscle thoracique

du mamelon et des femelles gestantes allaitantes ou non a été notée (Figure 6.2a). Après la période de lactation, les mamelons maintiennent leur aspect grand et kératinisé (Heideman et Utzurrum 2003), qui est le critère de la parturiente (Figure 6.2b). Par contre, les mamelons des nullipares sont petits et surmontés par des poils. Les adultes reproducteurs sont différents des adultes non-reproducteurs (mâles ou femelles sexuellement immature) et des jeunes, qui se distinguent par la présence de cartilages de conjugaison au niveau des métacarpes et des phalanges, qui, à la lumière d'une torche ou celle du jour, donnent un aspect blanc uniforme (Racey 1988).

Des individus capturés dont 154 *R. madagascariensis* à Madagascar (26 à l'Est : Fenerive-Est et Ile Sainte-Marie ; 92 individus au Nord : Antsiranana, Ankarana et Nosy Be ; 35 au Nord-ouest : Analalava et Soalala) et 50 *R. obliviosus* aux Archipels des Comores (16 individus d'Anjouan, 24 de Grand Comores et 10 de Mohéli) ont été disséqués afin d'étudier l'état de développement des organes sexuels de toutes les classes d'âges chez les deux sexes. Pour déterminer si la reproduction est synchrone entre les gîtes voisins, nous avons comparé les effectifs de chaque classe d'âges et le nombre des femelles en lactation et gestantes des deux gîtes (Antsahahety et Sahavao) à Anosibe An'Ala. La distance entre ces sites est de 16 km à vol d'oiseau.

Dans ce chapitre, les individus mâles ou femelles ayant une masse inférieure ou égale à 45 g (MacKinnon et al. 2003) et présentant des cartilages visibles au niveau des phalanges sont classés comme jeunes. Lorsqu'un individu a un poids autour de 45 g, une observation minutieuse des cartilages visibles au niveau des phalanges permet de confirmer si c'est une adulte ou une jeune chauve-souris.

Les individus capturés ont été pesés à l'aide d'une balance « Pesola ». Les mesures de l'avant-bras ou la longueur entre le bout distal du processus olécrane et celui du radius sans les carpes a été réalisées. Puisque les jeunes et adultes sont morphologiquement différents, uniquement les recueils des mesures des adultes ont été employés dans les analyses statistiques comparatives des six regroupements géographiques et des trois sites biogéographiques. Les mesures morphométriques, notamment de l'avant-bras et de la masse corporelle ont été utilisées au cours des analyses comparatives des individus à différentes saisons, dans différents

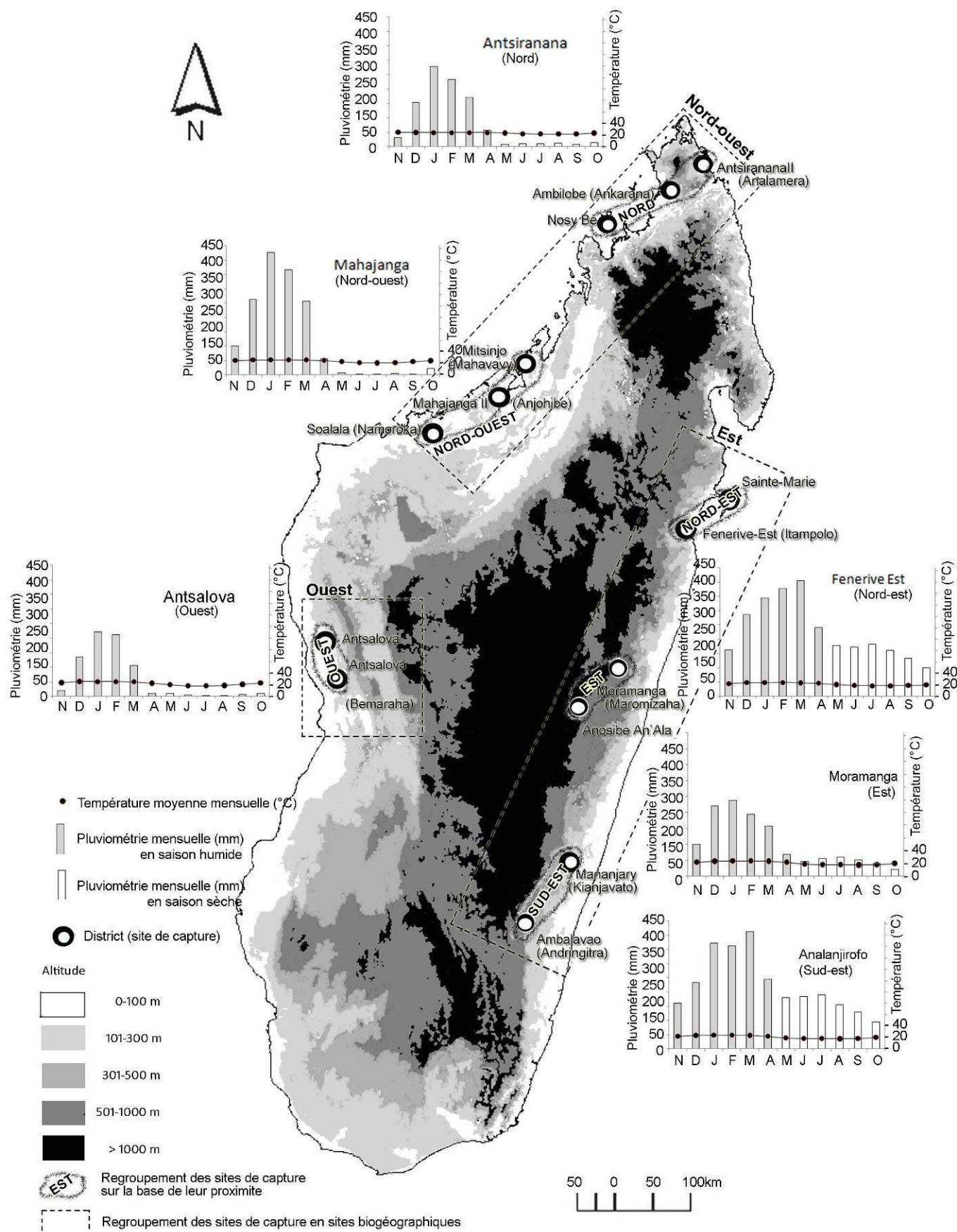


Figure 6. 1 : Carte de Madagascar montrant les intervalles d'altitude et les diagrammes de température et de pluviométrie mensuelles relatives des sites de capture regroupés (source des données météorologiques : Chaperon et al. 1993).

regroupements de sites de captures, différentes sites biogéographiques, à différentes altitudes et à différentes longitudes.

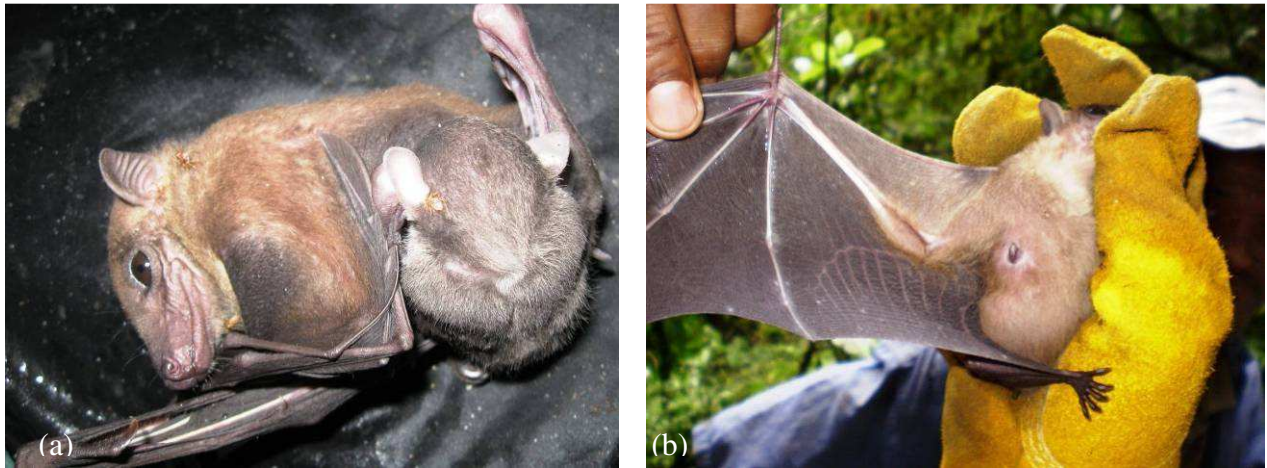


Figure 6. 2 : Femelles adultes de *Rousettus madagascariensis* (a) avec un nouveau-né et (b) parturiente (Cliché par A. R. Andrianaivoarivelo).

6.3.4. Climat

Dans l'ensemble de l'île, le climat est généralement tropical mais des régimes différents existent dans les trois sites bioclimatiques associées (Chaperon et al. 1993 ; Rajeriarison 1996). Sur le versant oriental, la moyenne annuelle de l'humidité se situe entre 75 et 80%. Au Nord, Antsiranana avec 68% d'humidité est située dans une zone de relative aridité résultant de la position géographique : orientation de la côte et des lignes de relief parallèles à la direction des vents dominants de Sud/Sud-est n'amenant que des ascendances orographiques faibles et par suite des pluies faibles en régimes d'alizés (Chaperon et al. 1993). La région de Nosy Be présente une humidité importante (75%) qui s'explique par le climat particulier dû à la présence du massif du Tsaratanana qui constitue une barrière naturelle de pluie et aux pluies abondantes apportées par les courants Nord-ouest.

Sur tout le versant occidental, du Nord au Sud, on observe les taux d'humidité les plus faibles compris entre 55 et 65%. Les moyennes de pluviométrie (mm) et les températures (°C) mensuelles ont été calculées, entre 1930 et 1970 par les stations météorologiques d'Antsalova, d'Antsiranana, de Fenerive Est, d'Ifanadina et de Mahajanga qui représentent les cinq sites géographiques de capture de *Rousettus madagascariensis* (Figure 6.1).

Pour tous les sites géographiques, les mois les plus humides sont décembre, janvier, février et mars. Pour les versants Nord, Ouest et sur la côte orientale, la pluviométrie maximale mensuelle se situe au mois de mars. Le site de l'Ouest subit des climats sévères caractérisés par une faible pluviosité et des écarts de température importants.

Le site biogéographique de l'Est constitue la région perhumide allant du versant oriental de l'île entre le Nord et le Sud et à l'Est du rebord oriental de Haut Plateau central (falaise) où l'indice global d'humidité Thornthwaite est supérieur à 100 (Thornthwaite 1948). La région connaît une petite saison sèche pluviométrique de juin à août (Chaperon et al. 1993). La température moyenne annuelle reste comprise entre 20 et 25°C.

Les deux autres sites biogéographiques font partie de la région sub-humide (Nord-ouest) et semi-aride (Ouest). Les précipitations annuelles moyennes sont comprises entre 700 mm (région semi-aride) et 1500 mm (région sub-humide). La saison déficitaire est nettement marquée (quatre à cinq mois avec moins de 15 mm de pluie). Les températures moyennes annuelles sont relativement élevées (plus de 25°C). La température du mois le plus frais reste supérieure à 20°C. On observe entre deux à six mois humides (Chaperon et al. 1993).

Pour les régions de l'Ouest et du Nord-ouest, le climat est de type tropical sec avec une saison sèche très marquée (mai-octobre) et une saison humide à pluviométrie variable (novembre-avril). En général, l'Ouest central reçoit moins de pluie (Ex. Morondava : 780 mm) par rapport au Nord-ouest (Ex. Mahajanga : 1500 mm). La moyenne des températures à Mahajanga oscille entre 24 et 28°C (Chaperon et al. 1993).

Ainsi, entre le littoral et les premiers reliefs de la bordure orientale, il existe une certaine homogénéité du climat (Ex. pluviométrie : 2500 à 3500 mm). Sur la côte Ouest centrale, du Nord au Sud, la pluviométrie décroît progressivement (de 1760 à 380 mm). D'est en Ouest, on observe aussi, généralement, une diminution des pluies moyennes annuelles dès le Haut Plateau central.

6.3.5. Végétation

A l'Ouest, une aridité plus ou moins intense impose sa marque constante à plusieurs types de paysages naturels qui s'opposent ou s'interpénètrent selon la répartition des différents sols et des associations végétales qui les recouvrent. Des essences aux feuillages ténus et des formations xérophi les perdent leurs feuilles pendant de longs mois secs (Trouchaud 1965). A l'Ouest, au Nord-ouest des forêts claires à plantes xérophi les dominant (Lourenço 1996).

L'habitat naturel du versant oriental (Est et Sud-est) est la forêt humide dense qui montre une variation structurale et taxonomique considérable le long des gradients d'altitude (Gautier et Goodman 2003). La région orientale est couverte par la forêt intacte ombrophile (tout au moins dans le passé). Il y a peu de forêts intactes en-dessous de l'altitude 400 m sur le versant oriental ; elles sont la plupart du temps limitées à l'extrémité Nord de l'île et le long de la côte Est (Goodman et Ganzhorn 2004).

6.3.6. Analyses statistiques et variables utilisées

Nous avons étudié les variations de la masse corporelle, de la longueur de l'avant-bras et d'un indice de masse corporelle calculé comme le résidu de la régression des masses corporelles sur les longueurs d'avant-bras. Nous avons d'abord recherché s'il existait un dimorphisme sexuel pour ensuite explorer si les variations morphologiques étaient liées à la latitude ou l'altitude entre ces populations qui forment une unité génétique très homogène (cf. Chapitre V). Ces analyses ont été effectuées en prenant en compte le fait que les captures avaient été réalisées à différentes saisons pour les analyses de masse corporelle et d'indice de masse corporelle. Les quatorze sites de capture peuvent être regroupés en trois grands sites biogéographiques mentionnés ci-dessus. Nous avons testé si, une fois prises en compte les variations liées aux différences entre saisons, altitudes et latitudes, et leurs interactions, il restait des différences entre sites biogéographiques qui n'étaient pas expliquées par ces variables, et si, à l'intérieur de ces régions biogéographiques, il existait des différences entre sites de captures regroupés sur la base de leur proximité géographique (Fig. 6.1). Les variables explicatives utilisées dans ces modèles sont donc le sexe, la saison (humide ou sèche), la latitude, l'altitude, le site biogéographique (Est, Nord-ouest, Ouest) et le groupe géographique (Nord-est, Est, Sud-est, Ouest, Nord-ouest et Nord).

Etant donné la normalité de la distribution des variables, des Modèles linéaires (ML) ont été utilisés et comparés à l'aide du critère d'Akaike (AIC) pour déterminer quelle(s) était(en)t la (les) variable(s) (et leurs interactions) qui expliquaient au mieux la variation observée dans les données morphologiques. Une fois ce modèle déterminé, un effet site biogéographique puis un effet regroupement géographique emboîté dans l'effet site géographique ont été ajoutés. Pour chaque variable réponse (masse corporelle, longueur de l'avant-bras, indice de masse corporelle) et chaque sexe, ont ainsi été comparés les modèles suivants :

- réponse ~ meilleur modèle,
- réponse ~ meilleur modèle + site biogéographique,

- réponse ~ meilleur modèle + site biogéographique / regroupement géographique.

Des analyses de variance ont été utilisées pour tester l'effet de variables de groupe (e.g. le sexe) sur la morphologie et pour comparer les modèles entre eux. Les mesures de l'avant-bras de *R. madagascariensis* ont été réalisées par différentes personnes. Il se pourrait que les différences entre les échantillons soient dues à l'observateur. Pour vérifier que ce n'est pas le cas, une ANOVA, indépendamment des modèles ci-dessus, a été effectué préalablement à ces analyses pour comparer les mesures de l'avant-bras de *R. madagascariensis*. Les analyses phénotypiques ont été effectuées uniquement sur des individus adultes.

La déviation par rapport à 1 de la sex ratio des chauves-souris jeunes et adultes capturées au niveau des gîtes ou en dehors des gîtes a été testée à l'aide de tests binomiaux (Sidney 1956). Toutes les analyses statistiques ont été conduites avec le logiciel R (R Development Core Team 2010).

6.4. RESULTATS

6.4.1. Captures

A Madagascar, 3189 individus (*Rousettus madagascariensis*) ont été capturés pendant les deux saisons contre 50 individus (*R. obliuosus*) sur les trois îles des Comores pendant seulement la saison humide. En majeure partie, les chauves-souris ont été capturées à l'entrée des gîtes, seulement une centaine ont été prises dans les forêts sèches caducifoliées largement intactes et les forêts humides sempervirentes largement intactes. Quelques individus s'aventurant aussi dans les terrains agricoles ont été capturées. Il en est de même dans la forêt de *tsingy*, dans les sites à essences introduits, dans les formations secondaires, dans les forêts humides et forêts sèches dégradées (Tableau 6.2). Ces constatations ne permettent aucune conclusion sur l'abondance des chauves-souris sur les différents habitats de capture car les efforts de capture réalisés dans ces habitats n'étaient pas les mêmes.

Tableau 6. 1 : Résumé des caractères bioclimatiques et des coordonnées géographiques, des sites de regroupement et zones biogéographiques de captures de *Rousettus madagascariensis* (Madagascar).

Zones	Sites	Zone	District	Climat	Végétation	Altitude (m)	Longitude et Latitude (degré, minute, second)
EST	Sud-est	Andringitra	Ambalava	Humide	Forêt dense humide fragmentée	720	E47°15'00" S22°13'19.2"
		Kianjavato	Mananjary		Forêt dense humide fragmentée	254	E47°52'14.1" S21°22'50.7"
	Est	Anosibe An'Ala	Anosibe An'Ala	Humide	Forêt dense humide	594 - 1087	E47°57'41.2" - E48°18'44.0" S19°21'48.8" - S19°32'24.2"
		Maromizaha	Moramanga	Humide	Forêt dense humide	1073	E48°27'17.1" S18°57'45.5"
	Nord-est	Sainte-Marie	Sainte-Marie	Humide	Forêt dense humide fragmentée	2 - 70	E49°51'19.8" - E49°57'22.2" S16°48'05.4" - S17°20'54.6"
		Tampolo	Fenerive-Est	Humide	Forêt dense humide	10	E49°24'0" S17°18'0"
NORD-OUEST	Nord	Analamera	Antsirana II	Sec	plantes xérophiles	40 - 200	E49°22'04.8" - E49°29'34.8" S12°42'43.2" - S12°47'42"
		Ankarana	Ambilobe	Sec	plantes xérophiles	40 - 125	E49°07'04.8" - E49°38'60" S12°55'55.2" - S12°57'22.8"
		Nosy Be	Nosy Be	Sec	Forêt dense humide	15 - 260	E48°14'03.6" - E48°18'12" S13°18'54" - S13°24'25.2"
	Nord-ouest	Anjajavy	Analalava	Semi-aride	plantes xérophiles	50	E47°12'10.2" S15°11'25.2"
		Anjohibe	Mahajanga	Semi-aride	plantes xérophiles	133	E46°53'10.3" S15°32'25.9"
		Mahavavy Kinkony	Mitsinjo	Semi-aride	plantes xérophiles	33 - 43	E45°48'25.9" - E46°00'23.0" S16°01'56.6" - S16°05'09.9"
OUEST	Ouest	Antsalova	Antsalova	Semi-aride	plantes xérophiles	64 - 150	E44°46'52.3" - E44°48'47.8" S19°08'12.2" - S19°08'59.7"
		Bemaraha	Antsalova	Semi-aride	plantes xérophiles	100 - 139	E44°46'07.3" - E44°48'43.9" S19°00'43.0" - S19°08'27.2"
		Namoroka	Soalala	Semi-aride	plantes xérophiles	84 - 125	E45°17'48.7" - E45°24'43.2" S16°22'56.5" - S16°28'12.2"

6.4.2. Dimorphisme sexuel

Le test ANOVA effectué pour comparer les mesures de poids et avant-bras prises par trois personnes (Radosoa A. Andianaivoarivelo, Andrinajoro Rakotoarivelo et Félicien H. Randrianandrianina) à Anjohibe pour *Rousettus madagascariensis* ne montre aucune différence significative ($0,24 < P < 0,84$). Le test a été réalisé simultanément pour les chauves-souris

adultes mâles et femelles. Donc, après ces comparaisons, les erreurs de précision selon le collecteur de donnée sont négligeables et n'affectent pas la différence de mesures entre groupes d'échantillons.

Tableau 6. 2 : Effectif de chauves-souris capturées dans chaque type d'habitat et regroupement géographique.

Habitat	Est	Nord	Nord- ouest	Sud-est	Nord- est	Ouest	Total
Arbres introduits	0	6	0	0	5	0	6
Forêt humide dégradée	0	3	0	4	2	0	9
Forêt humide intacte	5	5	212	0	1	0	223
Forêt sèche dégradée	0	3	32	0	0	0	35
Forêt sèche intacte	0	20	280	4	0	203	507
Forêt de <i>tsingy</i>	0	0	48	0	0	0	48
Formation secondaire	0	5	5	0	6	0	16
Gîte (grotte)	1707	16	154	1	0	261	2139
Terrain d'agriculture	71	37	25	12	14	47	206
Total	1810	91	756	21	26	511	3189

Il existe des différences significatives entre les deux sexes pour les trois mensurations : les masses corporelles, les mesures de l'avant-bras et les indices de masse corporelle. Les mâles adultes sont beaucoup plus lourds (ANOVA, $n = 413$, $df = 1$, $F = 655,13$, $P < 0,001$), ont un indice de masse corporelle plus important (ANOVA, $n = 790$; $df = 1$; $F = 431,53$; $P < 0,001$) et un avant-bras plus long (ANOVA, $n = 410$, $df = 1$, $F = 381,27$, $P < 0,001$) que les femelles adultes. Les adultes mâles et femelles (non compris les femelles gestantes) pèsent respectivement $70,38 \pm 7,04$ g (52,5-91,0 g) et $58,09 \pm 8,88$ g (40,0-85,0 g). La moyenne de la longueur de l'avant-bras des mâles est de $72,12 \pm 2,16$ mm (59,2-79,0 mm) et celle des femelles est de $70,07 \pm 2,63$ mm (58,0-82,0 mm).

Ces résultats nous conduisent à faire des analyses séparées, par sexe, des effets de la saison et de la position géographique (altitude et latitude) sur chacune des trois variables morphométriques.

6.4.3. Variations morphométriques en fonction de la saison, de la latitude et de l'altitude

Tableau 6. 3 : Les meilleurs modèles linéaires ont été choisis en fonction de la valeur d'AIC par sexe et pour chacune des trois variables morphologiques (masse corporelle, indice de masse corporelle et longueur de l'avant-bras) chez *Rousettus madagascariensis*. Le tableau donne le modèle retenu par la fonction 'step' de R. Les dernières colonnes donnent le résultat (test ANOVA) de la comparaison de modèles qui testent un effet région biogéographique et un effet regroupement géographique.

Variable morphométrique	Sexe	Meilleur modèle	Effet site biogéographique	Effet regroupement (sites de capture)
Masse corporelle	Femelle	Saison*Altitude*Latitude	p = 0,010	p = 0,005
	Mâle	Saison*Altitude*Latitude	P = 0,079	p < 0,001
Indice de masse corporelle	Femelle	Saison*Altitude*Latitude	p < 0,001	p < 0,001
	Mâle	Saison*Altitude*Latitude	p = 0,002	p < 0,001
Longueur de l'avant-bras	Femelle	Latitude	p < 0,001	p = 0,070
	Mâle	Altitude+Latitude	P = 0,133	p = 0,018

Les résultats pour les deux variables la masse corporelle et l'indice de masse corporelle étant quasiment identiques, nous les avons regroupées. Chez les mâles et les femelles de *Rousettus madagascariensis*, le meilleur modèle inclut l'effet de chacune des variables saison, altitude et latitude, et leurs interactions, sur les deux variables la masse corporelle et l'indice de masse corporelle. Une fois prises en compte ces trois variables et leurs interactions, on observe encore des variations significatives entre sites biogéographiques chez les femelles mais pas les mâles sur la masse corporelle, et pour les deux sexes sur l'indice de masse corporelle, ainsi que des différences entre groupes de populations regroupées en fonction de leur proximité géographique au sein de ces sites dans les deux sexes (Tableau 6.3).

Quel que soit le sexe, l'altitude, la latitude, la masse corporelle est toujours plus importante pendant la saison humide que pendant la saison sèche, sauf chez les mâles du site biogéographique Est où ces mâles ont une masse corporelle élevée même en saison sèche (Figure 6.3 ; Figure 6.4).

Par ailleurs, la masse corporelle augmente avec l'altitude, sauf chez les mâles en saison humide (Figure 6.3). Une inspection détaillée de la relation entre les deux variables montre par

ailleurs que cette augmentation est surtout réelle entre 0 et 500-600 m et que la masse n'augmente plus au-delà (Figure 6.3).

Les masses corporelles de *R. madagascariensis* augmentent avec la latitude (Figure 6.5). En effet, les individus se trouvant au Sud (Anosibe An'Ala et Maromizaha) sont plus lourds que ceux de la partie Nord (Ankarana, Analalava, Anjohibe, Antsalova, Antsiranana, Fenerive Est, Ile Sainte-Marie, Mitsinjo, Nosy Be, Namoroka et Soalala). Les Figures sont quasi-identiques et donc ne sont pas montrées pour la variable indice de masse corporelle.

Longueur de l'avant-bras

La latitude est la variable prépondérante permettant d'expliquer les variations de longueur d'avant-bras chez les deux sexes. Chez les femelles, c'est la seule variable retenue dans le meilleur modèle (Tableau 6.3).

Altitude et latitude (mais pas leur interaction) affectent la variation de la longueur de l'avant-bras des chauves-souris mâles. Ces variables n'expliquent pas toute la variation observée, puisque il existe des différences entre sites biogéographiques chez les femelles (Figure 6.6), et entre groupes de populations dans ces sites chez les mâles (Tableau 6.3).

Par ailleurs, chez les mâles et femelles, la longueur de l'avant-bras diminue avec l'altitude : plus l'altitude de capture augmente et plus la longueur de l'avant-bras ne diminue. Il en est de même pour la variable latitude : la longueur de l'avant-bras diminue quand on va du Nord au Sud (Figure 6.7).

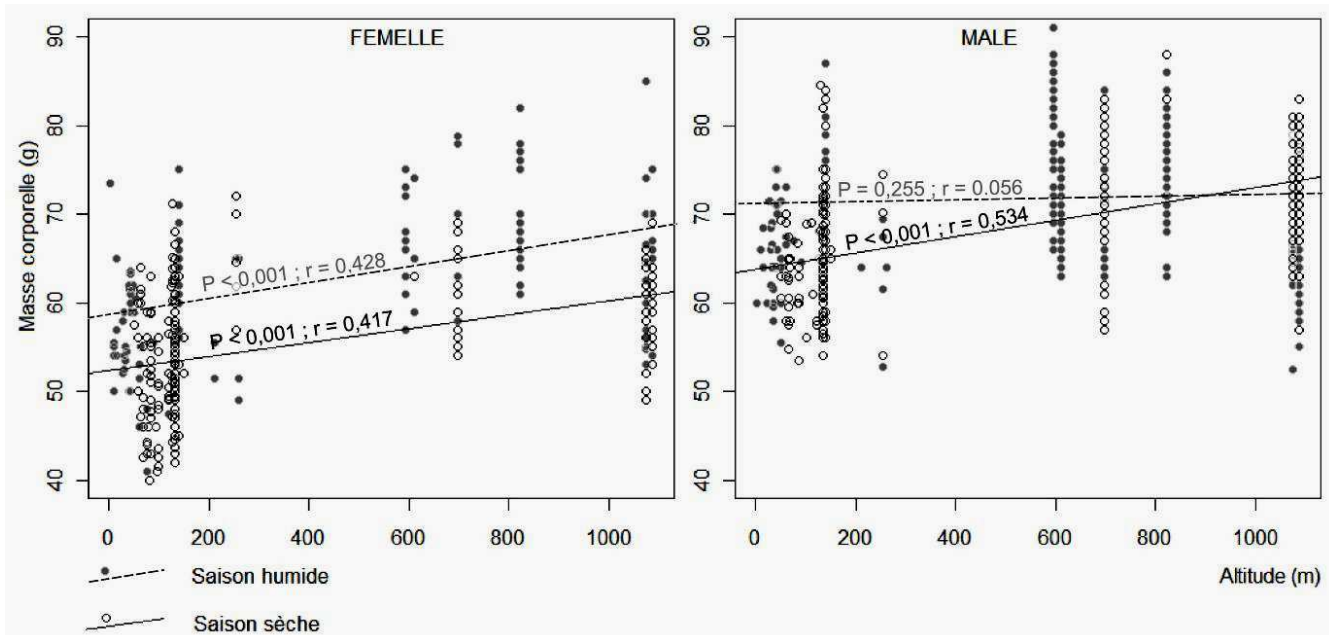


Figure 6. 3 : Relation entre la masse corporelle et l'altitude chez les femelles (gauche) et mâles (droite) de *Rousettus madagascariensis*.

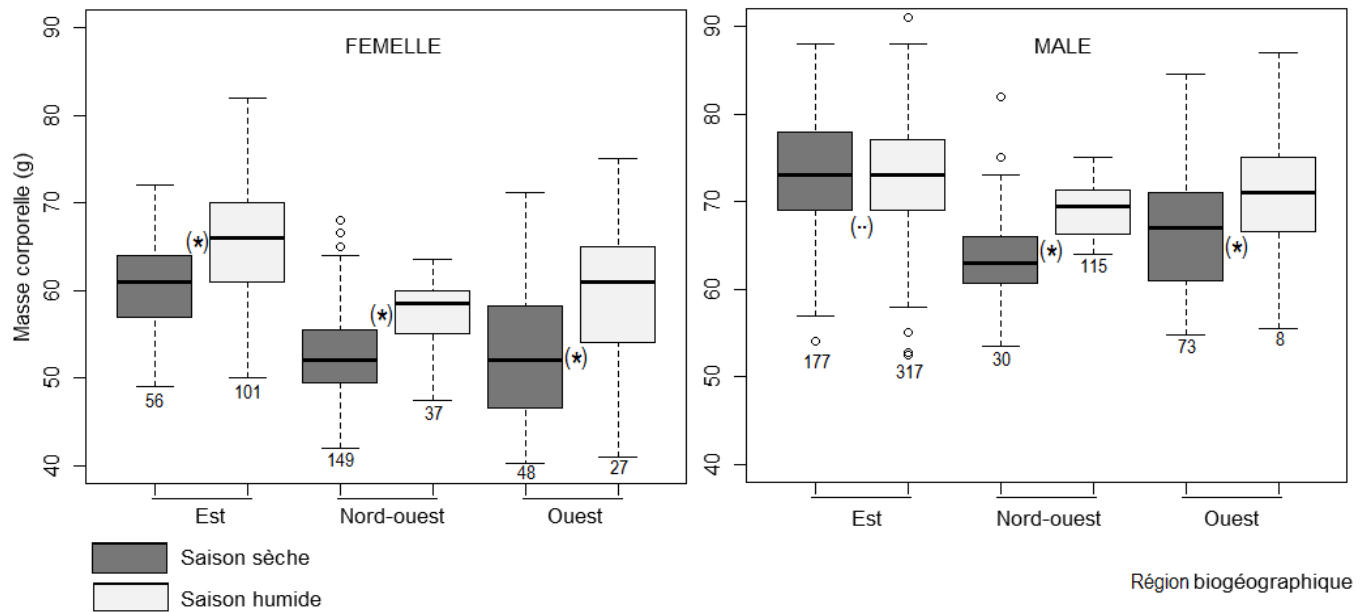


Figure 6. 4 : Variations de la masse corporelle chez *Rousettus madagascariensis* en fonction du site biogéographique chez les femelles (gauche) et mâles (droite) adultes pendant les saisons sèche et humide. Les astérisques indiquent une différence significative ($P < 0,001$) entre les deux saisons et les chiffres sont les effectifs des échantillons. Les traits gras représentent les médianes et les quartiles supérieur et inférieur correspondent aux traits inférieur et supérieur de la boîte.

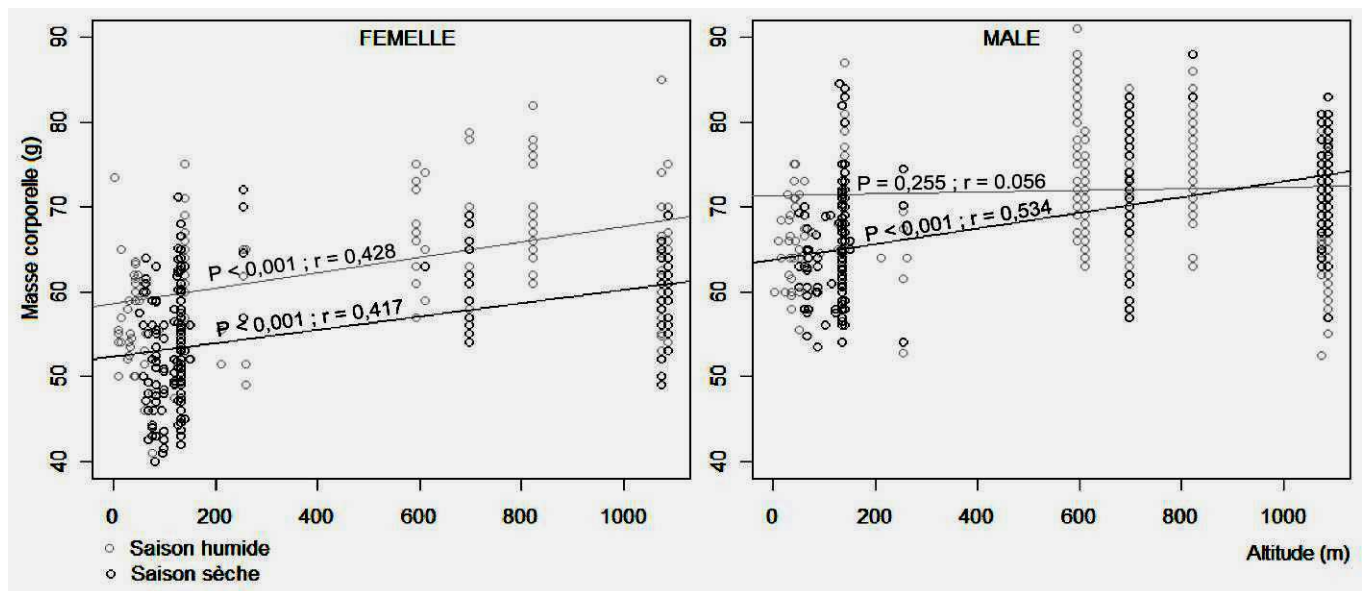


Figure 6. 5 : Relation entre la masse corporelle et la latitude chez les femelles (gauche) et les mâles (droite) adultes de *Rousettus madagascariensis*. « r » indique la vaeur de la coefficient de rorrrelation.

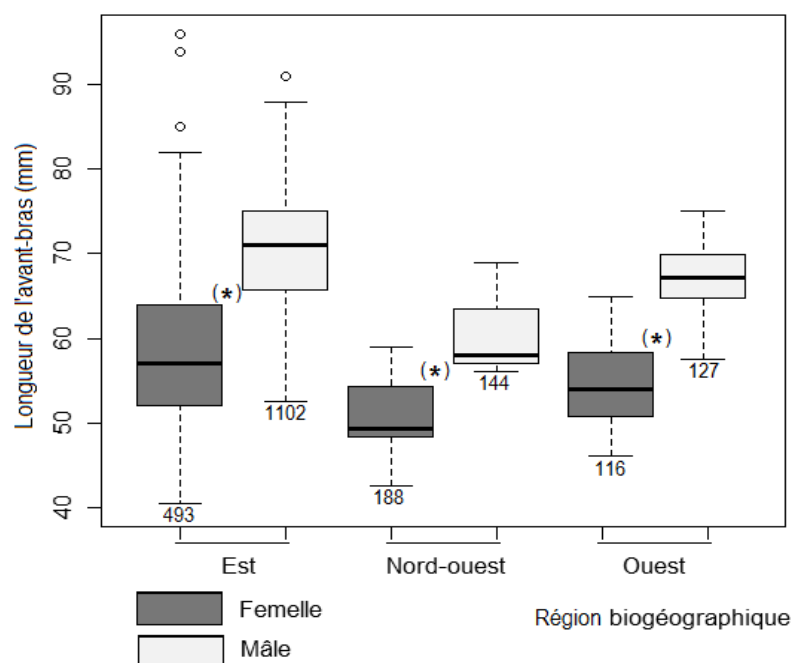


Figure 6. 6 : Variations (boîtes à moustaches) chez *Rousettus madagascariensis* de la longueur de l'avant-bras en fonction du site biogéographique chez les femelles et les mâles adultes. Les astérisques et les chiffres indiquent une différence significative ($P < 0,001$) entre les deux sexes et les chiffres sont les effectifs des échantillons. Les traits gras représentent les médianes et les quartiles supérieur et inférieur correspondent aux traits inférieur et supérieur de la boîte.

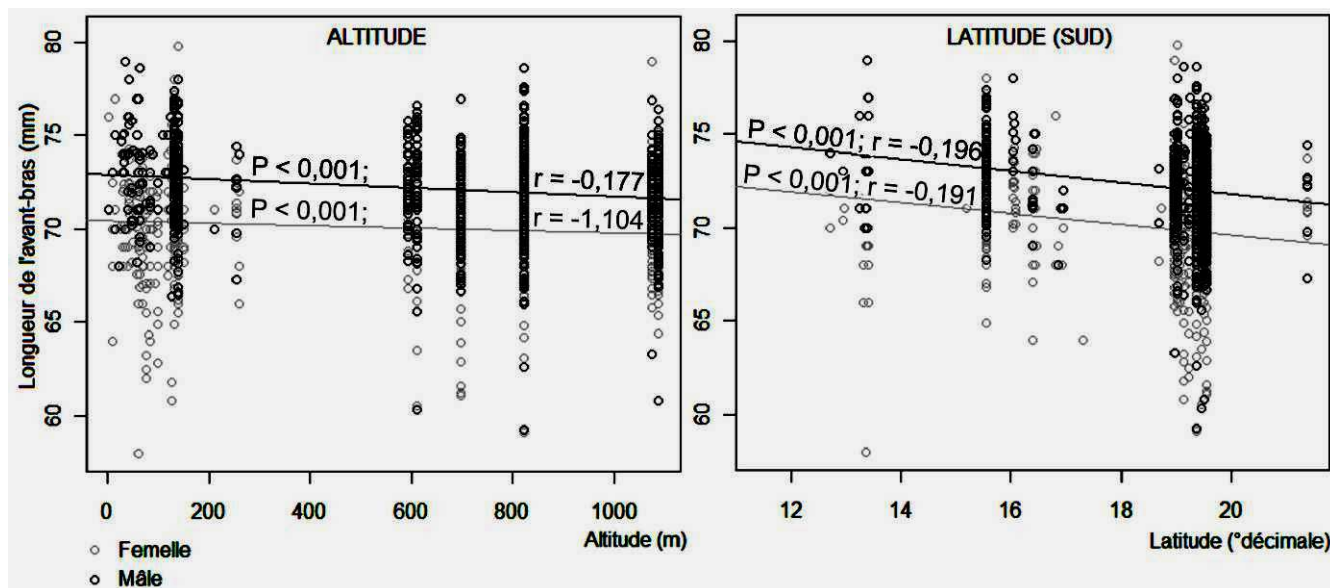


Figure 6. 7 : Relation entre la longueur de l'avant-bras et l'altitude (gauche) et la latitude (droite) de *Rousettus madagascariensis* mâles et femelles adultes. « r » indique la valeur du coefficient de corrélation.

Tableau 6. 4 : Moyennes, écart-types, mesures minimum et maximum des deux caractères morphologiques des individus adultes de *Rousettus madagascariensis*. Le test ANOVA compare les variances des moyennes entre ces mesures en fonction des variables : saisons, sites biogéographiques et sexes. Les différences significatives entre les variables sont marquées en gras.

	Moyenne, écart-type, min-max, et taille d'échantillon		Résultats de ANOVA sur les différences entre :		
	Femelle	Mâle	Saisons	Sites géographiques	Sexes
Masse corporelle (g)	58,09 ± 8,88 40,0-85,0 n = 413	70,38 ± 7,04 52,5-91,0 n = 711	df = 1 F = 214,92 P < 0,001	df = 4 F = 122,66 P < 0,001	df = 1 F = 655,13 P < 0,001
Avant bras (mm)	70,07 ± 2,63 58,0-82,0 n = 790	72,12 ± 2,16 59,2-79,0 n = 1369	Non calculé	df = 4 F = 10,071 P < 0,001	df = 1 F = 381,27 P < 0,001

6.4.4. Les périodes de reproduction

L'analyse par le test binominal des données sur les chauves-souris capturées dans deux gîtes (Antsahahety et Sahavao) montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les effectifs des femelles allaitantes ($P = 0,32$) ou ceux des parturientes ($P = 0,62$) ou bien ceux des mâles ($P = 0,77$) au mois de juillet 2009 de ces deux gîtes (Anosibe An'Ala). En effet, les proportions des sexes et des femelles selon leur condition de reproduction sont similaires entre les différentes colonies ou les gîtes étudiés.

Les femelles gestantes sont capturées principalement à la fin de la saison sèche et en début de la saison humide dans tous les sites d'étude (Figure 6.8 ; Annexe 7). A l'Est, à Anosibe An'Ala, 101 sur 199 femelles adultes étaient gestantes au mois de novembre (2008 et 2009). A l'Ouest (Bemaraha), 44 sur 49 femelles adultes capturées étaient gestantes au mois de novembre 2006 (Annexe 7). Mis à part les trois femelles gestantes observées à la fin de la saison sèche (sur 16 capturées en fin octobre) à Bemaraha, aucune femelle gestante n'a été capturée pendant la saison sèche au cours de nos missions de juin (2006), juillet (2003) et août (2003 et 2006). Pourtant, 20 (8 en 2004 et 12 en 2002) femelles gestantes sur 33 femelles adultes capturées ont été observées au Nord-ouest (Namoroka) à la fin de la saison sèche pendant le mois d'octobre. Par ailleurs, des embryons ont été observés sur les 10 femelles disséquées à Namoroka. Une gestante (parmi 19 femelles adultes) a été observée en saison sèche en mai 2007 à Anjohibe (Nord-ouest). Au Nord, les femelles adultes capturées, une à Analamera en janvier 2004 et dix à Nosy Be en février 2006 au cours de la saison humide étaient toutes gestantes. Toujours au Nord,

trois femelles gestantes ont été trouvées à Ankarana en mai 2003 au début de la saison sèche (Annexe 7), mais 13 et 4 autres femelles disséquées pendant la saison humide à Analamera en janvier 2004 et à Nosy Be en février 2006, respectivement, étaient aussi gestantes.

L'allaitement et la mise-bas pour tous les sites se passent généralement pendant la saison humide. Des femelles allaitantes (80/146 femelles adultes) avec ou sans les nouveau-nés ont été capturées à l'est au cours de la saison des pluies au mois de janvier, février et mars à Anosibe An'Ala (2009-2010). La majorité des femelles allaitantes dans cette région en mars et avril (Anosibe An'Ala 2009) a été observée sans le nouveau-né (Annexe 7). Cela suggère que le sevrage à l'est aurait commencé vers la fin du mois de février. Par contre, pendant la saison sèche (juillet 2009), 11 femelles (sur 72 femelles adultes) allaitantes ont été exceptionnellement enregistrées à Anosibe An'Ala. Au Nord, à Analamera et à Nosy Be, 4 sur 5 et 3 sur 18 femelles allaitantes ont été respectivement capturées au mois de janvier 2004 et février 2006. Au Nord-ouest, l'allaitement est aussi observé au cours de la saison sèche. En effet, 14 sur 61 et 7 sur 19 femelles adultes ont été allaitantes et respectivement capturées en juillet et août 2006 à Anjohibe et une autre allaitante sur 16 en saison humide à Mahavavy – Kinkony en mars 2006 (Figure 6.8 ; Annexe 7). A l'Ouest, à Bemaraha, seule une femelle allaitante sur quatre femelles adultes a été capturée en saison sèche en juin 2006). Mais les 44 gestantes sur 49 femelles adultes capturées au mois de novembre 2006 évoquent des mises-bas en décembre 2006 et en février 2007.

Les jeunes et adultes non-reproducteurs sont beaucoup plus abondants pendant la saison sèche dans tous les sites (Figure 6.9). Rappelons que les femelles non-reproductrices sont celles qui n'ont jamais mis bas et sont donc reconnaissables par les mamelons rudimentaires surmontés par des poils. Ils se différencient des jeunes par leur taille et leur poids relativement importants (> 45 g). Les jeunes sont abondants au mois de juin et juillet. A Anosibe An'Ala, 48 sur 109 individus capturés en juillet 2009 et 2010 étaient jeunes. Au Nord, pendant la saison humide, 13 adultes non-reproducteurs sur 31 ont été capturés en février 2002. Au Nord-ouest, à Anjohibe, en saison sèche, 75 sur 93 en juin 2006, 192 sur 252 en juillet 2006, 106 sur 125 en août 2006 et 20 sur 27 en septembre 2007 des chauves-souris capturées étaient des juvéniles et adultes non-reproducteurs, contre seulement 15 sur 32 individus en mars 2007 à Mahavavy-Kinkony. A Bemaraha, les jeunes sont aussi abondants au mois de juin 2006 (88 sur 91 individus) suivi de 30 sur 46 individus en octobre 2006 et 30 sur 79 aussi en novembre 2006.

Les plus petites chauves-souris capturées donnent une indication sur la masse approximative des jeunes *R. madagascariensis* commençant à quitter le gîte à la recherche de nourriture dans les sites d'alimentation. Les plus petites sont un mâle capturé à Analamera en janvier 2004, deux femelles d'Anosibe An'Ala en juillet 2009 et de Bemaraha en août 2003 pesant 23,0, 23,0 et 23,2 g, respectivement.

6.4.5. Sex ratio

Les analyses de sex-ratio montrent que chez les jeunes, les femelles sont capturées en surabondance par rapport aux mâles quel que soit la région et le site de capture (Tableau 6.5). Par ailleurs à l'entrée des gîtes, alors que la sex-ratio est, nous venons de le voir, en faveur des femelles chez les jeunes, c'est l'inverse qui est observé chez les adultes (Tableau 6.5).

Tableau 6. 5 : Sex-ratios (effectif des mâles/effectif des femelles) chez *Rousettus madagascariensis* pour chaque site géographique, des individus, jeunes (y compris les adultes non-reproducteurs) et adultes capturés à l'entrée et en dehors des gîtes. La déviation des sex ratio par rapport à 1 a été testée à l'aide de tests binomiaux (NS : non significatif ; * : $P < 0,05$; ** : $P < 0,01$; *** : $P < 0,001$). Le signe « - » est utilisé quand il n'y a pas de donnée.

	Entrée du gîte		Hors du gîte	
	Adultes	Jeunes	Adultes	Jeunes
Est	1064/476 = 2,24***	34/133 = 0,26***	55/26 = 2,12**	6/16 = 0,38 ^{NS}
Nord	-	1/14 = 0,071***	23/23 = 1 ^{NS}	12/17 = 0,71 ^{NS}
Nord-ouest	21/15 = 1,4 ^{NS}	22/96 = 0,23***	107/153 = 0,70**	72/270 = 0,27***
Sud-est	-	-	7/7 = 1 ^{NS}	-
Nord-est	-	-	4/7 = 0,57 ^{NS}	4/15 = 0,27***
Ouest	96/52=1,85***	27/86=0,31***	67/102=0,66**	4/2 = 2 ^{NS}
Tous les sites	1182/543=2,18***	84/330=0,25***	259/311=0,83*	127/353=0,36***

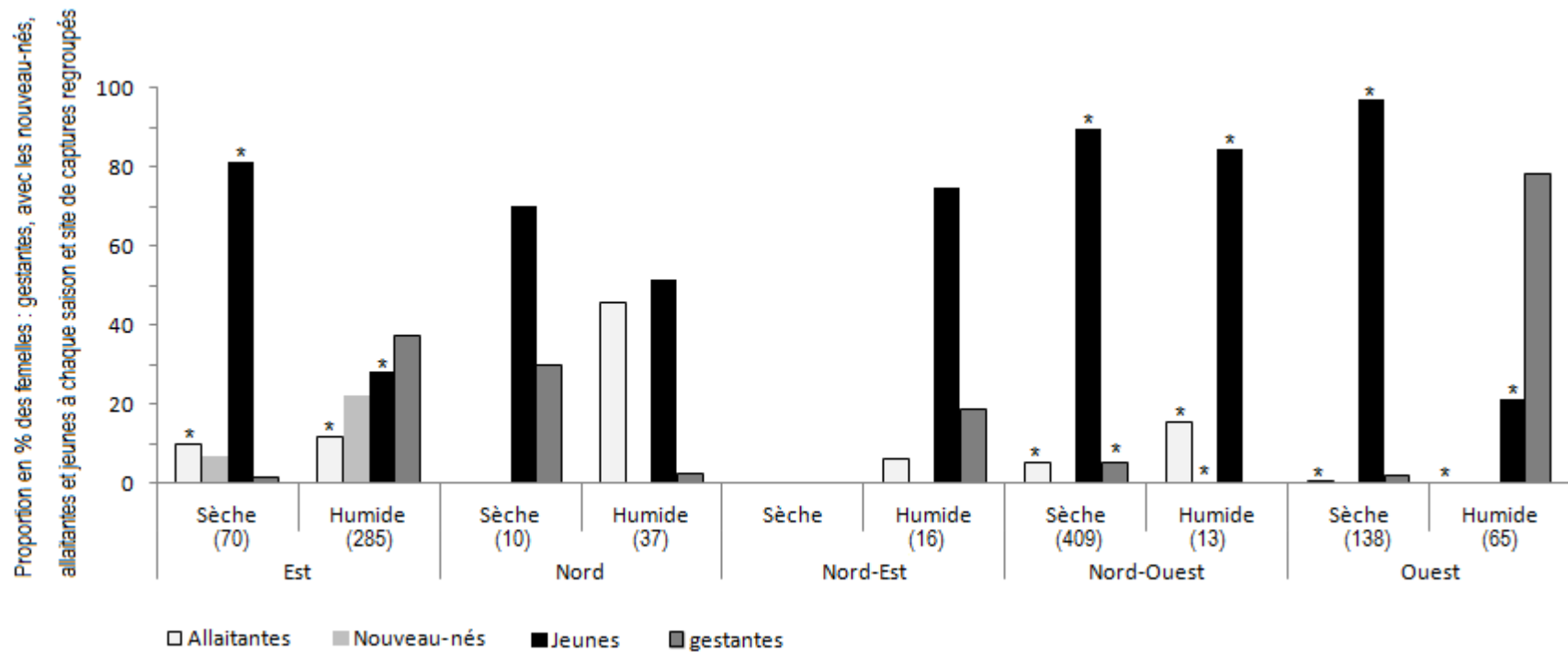


Figure 6. 8 : Conditions de reproduction chez *Rousettus madagascariensis* et effectif des femelles (en %) dans les cinq sites de captures regroupés (sans ceux du Nord-est en saison sèche et du Sud-est où les données sont manquantes) au cours des saisons sèche et humide. Les chiffres entre parenthèses représentent l'effectif des chauves-souris capturées durant les deux saisons. Les femelles parturientes sont des adultes ni gestantes ni allaitantes. Les astérisques indiquent des différences significatives entre saisons sèche et humide d'un même site de capture avec le test exact de Fisher ($P < 0,001$).

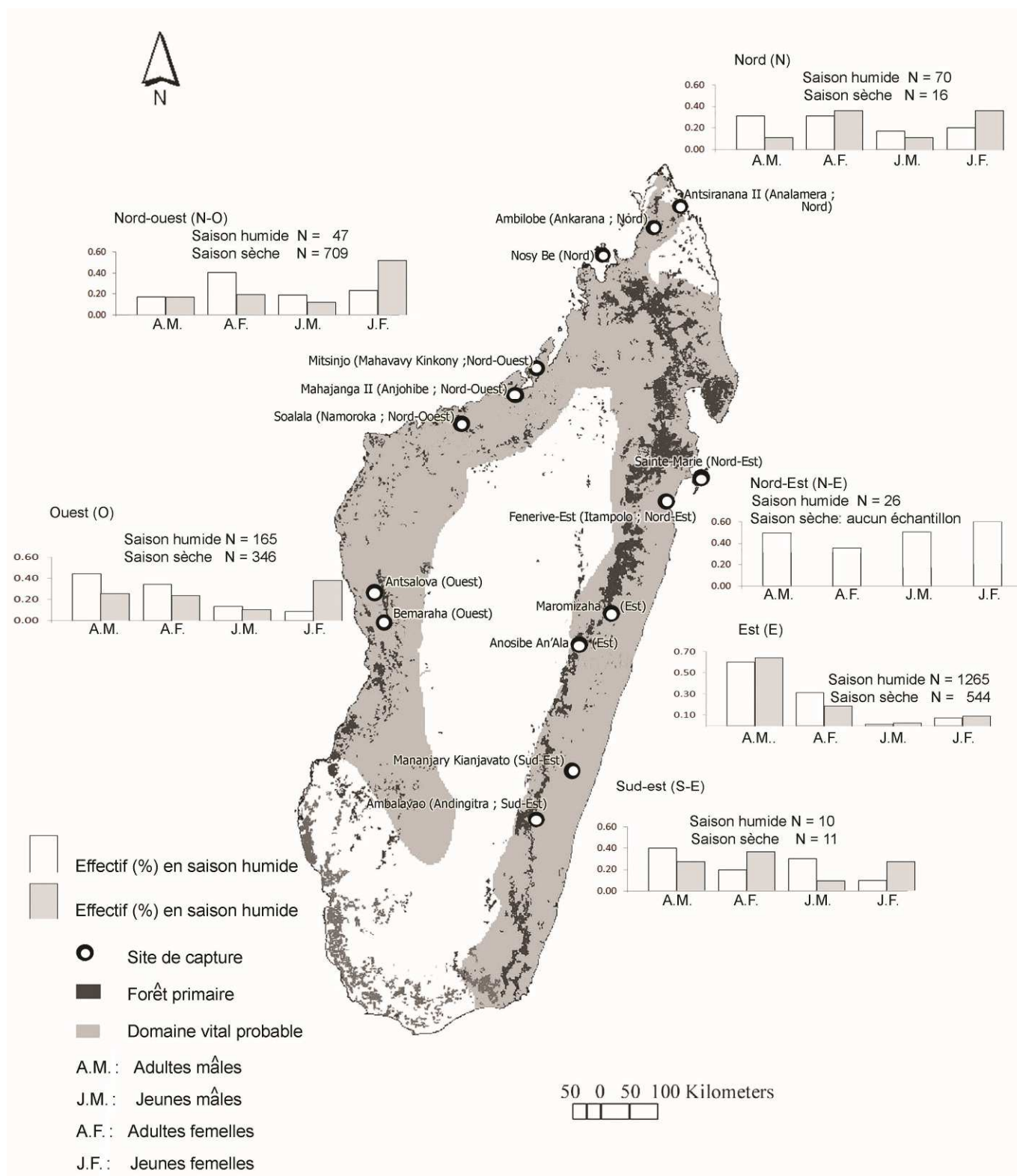


Figure 6. 9 : Sites d'échantillonnage chez *Rousettus madagascariensis*, des classes d'âge et de sexe en saisons sèche et humide. Chaque diagramme représente le pourcentage de sexe et âge à chaque saison de capture et dans chaque site de regroupement géographique.

6.5. DISCUSSION

6.5.1. Dimorphisme sexuel

Chez les mammifères, quand il y a dimorphisme sexuel, ce sont le plus souvent les mâles qui sont plus grands que les femelles, mais des exemples dans l'autre sens existent chez des rongeurs (Lammers et al. 2001), des Chiroptères (Storz et al. 2001) et des Ongulés (Ralls 1976) par exemple. Chez les chauves-souris insectivores le mâle plus grand que la femelle n'est pas une règle. Chez *Myotis nigricans*, les femelles sont sensiblement plus grandes que les mâles. Elles diffèrent des mâles par la masse corporelle, la taille du crâne, et la longueur de l'avant-bras (Bornholdt et Fabián 2008). Cependant, chez les chauves-souris frugivores (comme chez les mammifères en général) le succès d'accouplement (mais pas nécessairement le succès de reproduction) des femelles est souvent moins dépendant de la taille corporelle et on s'attend donc à ce que les femelles adoptent une stratégie plus conservatrice de croissance et investissent les ressources dans la reproduction plutôt que la croissance de corps (Schulte-Hostedde et al. 2001).

Pour certaines espèces de chauves-souris frugivores, l'expression du dimorphisme sexuel des adultes varie en fonction d'autres facteurs (Storz et al. 2001). Chez *Cynopterus sphinx*, les mâles sont plus grands dans le nord de l'Inde et les femelles sont plus grandes dans le sud (Storz et al. 2001). Ces auteurs proposent qu'une analyse de paternité puisse indiquer si ce décalage est en relation avec un déclin du degré de polygynie dans le sud. Les mâles adultes du genre *Rousettus* sont en général plus grands que les femelles (Phillips 1968). Cette différence de taille en faveur des mâles est constatée chez *R. oblioviosus* aux Comores (Kock 1978) et *R. amplexicaudatus* en Inde (Rookmaaker et Bergmans 1981). Chez *R. aegyptiacus*, le dimorphisme sexuel se manifeste par des différences de couleur du pelage et morphométriques (Kwiecinski & Griffiths 1999 ; Karatas et al. 2003), les mâles étant plus lourds et plus grands que les femelles (Albayrak et al. 2008).

Nous avons constaté qu'il existe un dimorphisme sexuel chez *R. madagascariensis*, les mâles étant systématiquement plus lourds et ayant de plus longs avant-bras que les femelles quel que soit le site géographique. Cette situation est observée chez la plupart des mammifères dont les mâles entrent en compétition pour les femelles. Être le plus grand est souvent plus avantageux dans la compétition intraspécifique des mâles. Ainsi, les mâles ont tendance à être plus grands que les femelles quand la compétition a lieu. Cette différence peut aussi résulter du choix des femelles pour des mâles qui semblent forts (grands) et en bonne santé car

probablement possèdent « les bons allèles » et contribuent à l'amélioration de la progéniture (Myers 1978). Un mécanisme qui permet de diminuer la compétition alimentaire pourrait aussi expliquer le dimorphisme sexuel. En effet, le dimorphisme sexuel peut survenir comme conséquence de la compétition entre les sexes sur les ressources, ou parce que les sexes utilisent des ressources différentes (Myers 1978). Aucune recherche n'a encore été réalisée pour savoir si *R. madagascariensis* opte pour une structure sociale en harem, et, si c'est le cas, si les mâles ont une plus grande taille du fait de la sélection sexuelle. Des recherches sur la reproduction des mammifères femelles révèlent qu'une taille plus grande des femelles ralentit le processus de reproduction et augmente les dépenses énergétiques (Lindenfors 2002). Ainsi, comme la fécondité constitue le facteur principal de sélection pour les femelles, il n'est pas dans leur intérêt de devenir plus grandes. D'ailleurs, les différences évidentes entre les mâles et les femelles incluent toutes les caractéristiques rattachées au rôle reproducteur, notamment les systèmes hormonaux endocrines et leurs effets phénologiques (Kunz et al. 2009). Chez les chauves-souris, les différences entre mâles et femelles sur la mesure de l'avant-bras et la masse corporelle sont en effet expliquées par Kunz et al. (2009) comme effets des hormones sexuelles secondaires. En outre, l'excrétion d'œstrogène au stade de maturité reproductive chez les femelles accélère la fusion des épiphyses des os longs et réduit leur croissance. Puis, la testostérone facilite l'accroissement de la densité des os et des muscles des chauves-souris mâles. En effet, la différence hormonale constitue la base des différences sur la croissance post-natale et sur la taille des mâles et des femelles indépendamment des conditions physiques de la mère (Kunz et al. 2009).

6.5.2. Réponses morphologiques associées à la latitude et l'altitude

Bergmann (1847) a constaté que chez les Vertébrés homéothermes, les individus des régions chaudes sont plus petits et légers que ceux des régions froides. La base de cette règle biogéographique repose sur des différences de thermorégulation et de métabolisme dans des régions climatiques différentes. Augmenter sa taille et son poids c'est réduire sa surface corporelle et donc limiter les pertes caloriques.

Huston et Wolverton (2009) proposent une autre explication à ces variations latitudinales, qui est liée au concept de PPNe, la production primaire nette disponible lors de la croissance. La PPNe augmente dans le même sens que la latitude aux latitudes intermédiaires. Cette théorie est

aussi valable pour une grande île comme Madagascar qui a une surface de 550000 Km² et qui s'est séparée de l'Afrique.

Nous avons observé chez *Rousettus madagascariensis* que le poids est corrélé à la latitude et l'altitude (les animaux les plus lourds sont retrouvés dans le sud et en altitude). Beaucoup d'autres espèces de mammifères des régions tempérées et tropicales montrent un pattern conforme à la Règle de Bergmann. Chez *Syconycteris australis* (Pteropodidae), une espèce Australienne, en revanche, Bonaccorso et McNab (1997) ont montré que les animaux sont plus lourds à basse (altitude < 200 m ; masse moyenne = 16,3 g) qu'à moyenne altitude (altitude > 600 m ; masse moyenne = 15,3 g), ce qui est l'inverse de ce que l'on a trouvé chez *R. madagascariensis* (les règles biogéographiques observées sur des gradients latitudinaux se retrouvent aussi sur des gradients altitudinaux). La PPNe pourrait affecter la variation de la masse corporelle de *R. madagascariensis* dans les différentes latitudes, une variation qui est conforme à la règle de Bergmann. Le concept PPNe peut être aussi aligné à l'hypothèse liée au métabolisme de base. Selon Bonaccorso et McNab (1997) et McNab (2010) le métabolisme de base des chauves-souris augmente quand la température diminue, et donc quand la latitude et l'altitude augmentent. Les analyses faites par Bartholomew et al. (1964) et Kulzer et Storff (1980) sur les Pteropodidae montrent par ailleurs que le logarithme de métabolisme de base est corrélé significativement avec la masse corporelle des chauves-souris. L'augmentation de la masse corporelle conduit à une diminution de la fréquence de battement et de la manœuvrabilité (Aldridge et Brigham 1988 ; Norberg et Rayner 1987), ce qui peut avoir des répercussions sur des traits liés au vol.

Les variations de taille entraînent elles aussi des variations de surface corporelle, mais on observe chez *Rousettus madagascariensis* que la longueur de l'avant-bras et la masse corporelle répondent de façon opposée aux variations de latitude et d'altitude. La longueur de l'avant-bras est évidemment fortement liée aux contraintes du vol, or nous venons de voir que les animaux plus lourds sont moins manœuvrables et ont une fréquence de battement d'aile réduite, ce qui peut être compensé en partie par un allongement de l'aile (ex. Stockwell 2001). Par ailleurs, selon Rojas-Martínez et al. (1999), la longueur de l'avant-bras est en relation avec la longueur des trajets de vol. Cette théorie nous amène à penser que les chauves-souris à basse altitude qui sont principalement celles d'Ile Sainte-Marie, de Mahajanga II, d'Antsiranana II, de Soalala et d'Antsalova (Figure 6.1) sont habituées à réaliser des vols de longue distance qui correspondent soit à un long mouvement périodique soit à la recherche nocturne de nourriture vers des sites

lointains. Les chauves-souris de ces zones, à cause de la fragmentation des habitats où elles se nourrissent et à la rareté des fruits et des fleurs (Du Puy et Moat 1996 ; Goodman et Ganzhorn 1997 ; Smith 1997), sont obligées de voyager plus loin que celles de l'Est (Anosibe An'Ala et Moramanga) où la forêt pluvieuse intacte offre des ressources alimentaires proches des gîtes. A Sainte-Marie, la végétation originale constituée par la forêt humide intacte est actuellement fragmentée et il n'y reste que des petits fragments de forêt. Les chauves-souris frugivores de l'île sont donc obligées de manger sur les terrains de culture ou sur les petits fragments de forêt ou de traverser la mer pour accéder à la forêt naturelle du territoire continental (Rakotonandrasana et Goodman 2007). La connaissance sur le mouvement de *R. madagascariensis* entre les deux territoires est encore insuffisante mais *Pteropus rufus* au crépuscule a été observée voler de l'Île Sainte-Marie vers l'île principale, traversant une distance minimale de 7 km (Rakotonandrasana et Goodman 2007). Les contraintes liées aux ressources alimentaires des chauves-souris en basse altitude constituent un facteur environnemental qui aurait pu entraîner des adaptations morphologiques comme l'allongement de l'avant-bras. Outre l'adaptation associée au besoin de voler sur de longues distances pour la recherche des nourritures, l'apport d'éléments nutritionnels riches en calcium contribue à l'allongement de l'avant-bras. Cette diversité morphologique liée à l'éco-géographie a été aussi constatée chez d'autres espèces de chauves-souris frugivores. Chez *Artibeus planirostris*, les individus des régions sèches de la savane de Llanos, au nord de l'Orénoque (Venezuela), sont plus petits que les individus des régions tropicales et humides au sud de la savane de Llanos et de l'Orénoque (Lim 1997 ; Peter et al. 2007). Des corrélations similaires entre la taille du corps et le type de climat (humide ou aride) avaient déjà été notées dans le genre *Artibeus* (Davis 1984; Marques-Aguiar 1994). Dans tous les cas, une recherche plus approfondie est nécessaire pour expliquer la variation morphologique observée chez *R. madagascariensis* afin de vérifier l'hypothèse d'un effet d'éco-géographie sur la taille du corps.

6.5.3. Variation morphologique saisonnière et spatiale (site biogéographique et site de regroupement géographique)

Variation morphologique saisonnière liée à la phénologie des plantes

La différence significative entre les saisons pour la masse quel que soit le sexe est probablement liée au climat et en conséquence à la disponibilité alimentaire des habitats autres que la forêt naturelle (humide de l'est ou caducifoliée de l'Ouest). D'ailleurs, la saison de pluie offre une alimentation plus abondante. La masse corporelle plus élevée pendant la saison humide pourrait

s'expliquer par la consommation de ressources autres que celles des forêts. L'imprévisibilité climatique entraîne les changements des périodes de fructification et de floraison des plantes forestières malgaches (Dewar et Richard 2007). La variation phénologique au niveau de la flore forestière affecte les consommateurs primaires notamment les lémuriens, qui répondent par les changements comportementaux, de régime alimentaire, de saison de reproduction ou de domaine vital (Canale et al. 2011). Ces changements imprévisibles ont formé l'évolution de caractéristiques distinctives de la faune mammifère de l'île et contribuent au manque d'effectif d'oiseaux et de mammifères frugivores à Madagascar (Dewar et Richard 2007). Chez *Rousettus madagascariensis*, l'augmentation de sa masse corporelle semble être associée à la saison des pluies. Les plantes exotiques ou qui poussent sur les habitats dégradés ont des phénologies liées à la saison de pluie. Ces constatations nous amènent à supposer que, le gain de poids pendant l'été chez *R. madagascariensis* peut être dû aux plantes à fruits ou à fleurs pionniers et/ou introduites ayant des phénologies saisonnières et prédictibles. En hiver, les chauves-souris sont moins lourdes, elles auraient utilisé leurs réserves car les fruits dans tous les sites d'alimentations sont moins abondants et le métabolisme de base augmente.

Variation morphologique spatiale indépendante de la latitude et de l'altitude

Les différences morphologiques entre les sites géographiques et entre les regroupements géographiques des échantillons de *R. madagascariensis* ne sont pas en relation avec la variation latitudinale ou altitudinale. Ces sous-populations sont celles de l'Ouest, Nord-ouest et de l'Est dont les mesures de l'avant bras des femelles constituent le critère de distinction ou celles des mâles du Nord, Nord-ouest, Est (et Sud-est) et Sud-est qui sont différentes pour la même variable.

Par ailleurs, en considérant la masse corporelle et l'indice de masse corporelle, les colonies de chacun des six regroupements géographiques sont morphologiquement différentes mais la similarité génétique entre les colonies distantes ne nous permet pas de les considérer comme des sous-populations. Nos études morphométriques (avant-bras, masse corporelle et indices de masse corporelle) montrent qu'au moins les populations de l'est sont différentes de celles de l'Ouest, du Nord et du Nord-ouest. Les individus de l'Est et du Sud-est sont plus lourds et possèdent un avant-bras plus court et un indice de masse corporelle plus important que ceux situés en basse altitude. A ce stade de notre étude, il est cependant impossible de savoir si ces différences morphologiques qui apparaissent dans un contexte d'importants flux génétiques sont

liées à la plasticité phénotypique ou à la sélection sur de la variabilité phénotypique. L'élevage des individus issus de différents milieux géographiques dans un environnement commun nous aiderait à faire la part entre sélection naturelle et plasticité morphologique. Chez *Mops leucostigma* (famille des Molossidae) la situation est similaire, avec une seule méta-population (données mitochondriales) mais les différentes régions de l'île montrent de différences morphologiques très prononcées (Ratrimomanarivo et al. 2008).

Ainsi, nous recommandons l'utilisation des données plus diversifiées morphologiquement et génétiquement pour avoir une description plus nette de la variation géographique de cette espèce. Ces données nous permettront de tester la corrélation entre les variations écologiques/géographiques et la morphologie avec des motifs de divergence génétique à l'appui.

6.5.4. Reproduction et développement post-natal

Des constations sur la biologie de reproduction découlent de données représentées par les effectifs de femelles gestantes, allaitantes et des jeunes après sevrage. Selon Kozhurina et Il'chenko (2010) la période entre l'accouplement et la mise-bas de *Rousettus aegyptiacus* varie entre 95 et 98 jours. Le nouveau-né s'accroche à la femelle lors des activités de recherche alimentaire et aucun cas de jumeaux n'a été observé. Elangovan et al. (2002) ont montré que les jeunes de *R. leschenaulti* commencent à voler quand ils ont atteint 45% de la masse corporelle et 77% du squelette d'un adulte. Elangovan et al. (2004) dans leur expérience ont conclu que le jeune de *R. leschenaulti* achève un vol indépendant de la mère vers le site d'alimentation à l'âge de 75 jours et que la taille adulte est atteinte en deux mois. La charge alaire diminue linéairement jusqu'au 50^{ème} jour puis, augmente graduellement (Elangovan et al. 2004). Ce genre de données n'est pas disponible chez *R. madagascariensis* et nous extrapolons les informations citées ci-dessous pour certaines comparaisons pour cette espèce.

Les faibles effectifs ou absences de capture dans quelques sites pendant certains mois (Annexe 7) ne nous permettent pas de tirer des conclusions rigoureuses sur le cycle annuel de reproduction de *R. madagascariensis*. Toutefois les observations des conditions de reproduction révèlent quelques variations saisonnières et spatiales sur le mode de reproduction dans au moins trois zones de capture. L'abondance des femelles allaitantes en période de pluie ou des jeunes au cours de la saison sèche impliquent que la reproduction est liée à la saison. La présence de quelques individus allaitants (à l'Est : Anosibe An'Ala et au Nord-ouest : Anjohibe) au cours de

la saison sèche indique que les cycles sexuels de *R. madagascariensis* peuvent varier en période de reproduction de manière moins importante en saison sèche, et plus longue en période de pluie. A Anjohibe, les mises-bas et la lactation en saison sèche observées chez quelques individus pourraient être favorisées par l'abondance de fruits exotiques (*Ziziphus jujuba* : Rhamnaceae ; *Anacardium occidentale* : Anacardiaceae, etc...) et de plantes autochtones comme *Ficus* spp. qui fructifient au cours de la période sèche.

La taille de population est affectée par la production de jeunes, elle-même est liée aux conditions environnementales (Ransome et McOwat 1994). L'hypothèse de la « prudence maternelle » (Clark 1978) dit que les femelles ne donneraient plus naissance quand le climat et les ressources alimentaires donnent peu de chance à la survie des nouveaux nés et aux jeunes. Le cycle de reproduction pourrait impliquer l'adaptation aux types de végétation locale, aux conditions climatiques et aux différences régionales sur l'abondance de nourriture. Les chauves-souris pourraient répondre à ces différences dans les contextes régionaux en se spécialisant sur la nourriture localement disponible, adaptant leurs stratégies alimentaires et leurs cycles de reproduction pour assurer que la parturition coïncide avec la période d'abondance en nourriture.

En ce qui concerne le pattern de reproduction des chauves-souris frugivores de Madagascar, les chercheurs n'ont rapporté que quelques observations anecdotiques telles que l'accouplement de *Pteropus rufus* au Sud-ouest de Madagascar qui se passe entre avril et juillet (Raheriarisena 2007).

Les chauves-souris frugivores malgaches mettent bas un nouveau-né par an et la plupart des chauves-souris malgaches (insectivores et frugivores) sont gestantes entre août et décembre (Jenkins et Racey 2008).

Toutefois, la période de reproduction des chauves-souris frugivores africaines aux mêmes latitudes que Madagascar est mieux étudiée. *Rousettus aegyptiacus* a un système de reproduction cyclique et acyclique, éventuellement considéré comme des adaptations à des conditions géographiques et climatiques locales (Kwiecinski et Griffiths 1999). Chez cette espèce, la période de reproduction est dépendante de la disponibilité alimentaire car en captivité, elle se reproduit toute l'année (Kulzer 1969a) et les jeunes naissent tous les mois (Herzig-Straschil et Robinson, 1978). Dans la nature la mise bas a été observée en Ouganda et en Afrique orientale uniquement en Mars et Septembre (Mutere 1968a; 1968b). L'accouplement de *Eidolon dupreanum* en Ouganda se passe en avril-juin, mais les embryons sont implantés seulement en Octobre-Novembre (Mutere 2009). Dans la savane humide au Sud de la Guinée et la savane

sèche au Sud du Soudan (Thomas et Marshall 2009), où se reproduisent *Epomops buettikoferi*, *Epomophorus garnbianus*, et *Micropteropus pusillus*, les deux périodes annuelles de naissance et de lactation ont été suivies par une seule période de sevrage qui coïncide avec le pic de la saison des pluies pendant laquelle les fruits sont abondants. En effet, les chercheurs supposent que la lactation, plutôt que le sevrage, constitue la période critique de la reproduction d'*E. buettikoferi* et *M. pusillus* qui commencent à se reproduire à l'âge de 12 mois, alors que les mâles de ces deux espèces sont pubères dès 11 et 7 mois respectivement (Thomas et Marshall 2009).

6.5.5. Sex ratio

La raison du faible taux de capture des jeunes mâles et l'abondance d'adultes mâles capturés n'est pas claire. Un faible taux de survie des jeunes mâles peut être une des raisons possibles, mais elle est peu compatible avec des sex-ratios en faveur des mâles chez les adultes. Il pourrait s'agir d'une différence de taux de capture entre les deux sexes qui pourrait être liée à une dispersion plus rapide des jeunes mâles de leur groupe natal avant d'atteindre la taille adulte ou à un faible taux de capture des jeunes mâles à cause de leur agilité à éviter le filet de capture, comme le montre le sex ratio hors du gîte. Si la dispersion plus rapide des jeunes mâles constitue la cause probable de leur faible effectif dans nos sites de capture, aucun de nos sites (gîtes ou autre sites de capture) ne représente un site de regroupement des jeunes mâles mais ce site pourrait exister ailleurs. Par analogie, Ralisata et al. (2010) ont capturé seulement des mâles de *Myzopoda aurita* (famille Myzopodidae) dans leurs sites de capture au centre Sud-est de Madagascar, des sites qui pourraient être considérés comme site de dispersion avant la reproduction.

6.5.6. Conclusion

Les variations morphométriques sont associées à un dimorphisme sexuel et à la position géographique et latitudinale des échantillons. La masse corporelle varie aussi en fonction de la disponibilité alimentaire qui dépend de la saison des pluies. Les populations de basse altitude et/ou du Nord de Madagascar ont un avant-bras plus long pour une masse corporelle moins lourde que celles de haute altitude et du Sud. La mise-bas et la lactation se déroulent au cours de la saison des pluies et le sevrage se déroule vers la fin de la période humide. La croissance des jeunes a lieu au cours de la saison sèche et la croissance somatique s'achève en une année. Le contraste entre la faible abondance des jeunes mâles par rapport à celle des jeunes femelles et la

plus forte abondance des mâles adultes par rapport à celle des femelles adultes restent encore énigmatiques.

6.6. RÉFÉRENCES

- Albayrak I., N. Aşan and Yorulmaz T. 2008. The natural history of the Egyptian fruit bat, *Rousettus aegyptiacus*, in Turkey (Mammalia : Chiroptera). *Turkish Journal of Zoology* 32 : 11–18.
- Aldridge H. D. J. N. and Brigham R. M. 1988. Load carrying and maneuverability in an insectivorous bat : A test of the 5% ‘rule’ of radio–telemetry. *Journal of Mammalogy* 69 : 379–382.
- Andrianaivoarivelo R. A., Ramilijaona O. R. and Andriafidison D. 2007. *Rousettus madagascariensis* (Grandidier, 1928) feeding on *Dimocarpus longan* in Madagascar. *African Bat Conservation News* 11 : 3–4.
- Andrianaivoarivelo R. A., Ramilijaona O. R., Racey P. A., Razafindrakoto N. and Jenkins R. K. B. 2011. Feeding ecology, habitat use and reproduction of *Rousettus madagascariensis* Grandidier, 1928 (Chiroptera : Pteropodidae) in eastern Madagascar. *Mammalia* 75 : 53–68.
- Bartholomew G. A., Leitner P and Nelson J. E. 1964. Body temperature, oxygen consumption and heart rate in three species of Australian flying foxes. *Physiological Zoology* 37 : 179–198.
- Bergmann C. 1847. Über die verhältnisse der warmeökonomie der thiere zu ihrer grosse. *Göttinger Studien* 1 : 595–708.
- Bonaccorso F. J. and McNab B. K. 1997. Plasticity of energetics in blossom bats (Pteropodidae) : impact on distribution. *Journal of Mammalogy* 78 : 1073–1088.
- Bornholdt R. I., Oliveira L. R. and Fabián M. E. 2008. Sexual size dimorphism in *Myotis nigricans* (Schinz, 1821) (Chiroptera: Vespertilionidae) from south Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 68(4) : 897–904.
- Canale C. I., M. Perret, Théry M. and Henry P.Y. 2011. Physiological flexibility and acclimation to food shortage in a heterothermic primate. *The Journal of Experimental Biology* 214 : 551–560
- Chaperon P., Danloux J. and Ferry L. 1993. *Fleuves et rivière de Madagascar*. ORSTOM, Paris. 874 Pp.
- Clark A.B. 1978. Sex ratio and resource competition in a prosimian primate. *Science* 201 : 163–65.

- Davis W. B. 1984. Review of the large fruit-eating bats of the *Artibeus lituratus* complex (Chiroptera: Phyllostomidae) in Middle America. Occasional Papers, Museum of Texas Tech University 93 : 1–16.
- Dewar R. E. and Richard A. F. 2007. Evolution in the hypervariable environment of Madagascar. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, USA 104 : 13723–13727.
- DuPuy, D.J. and Moat J. 1996. A refined classification of the primary vegetation of Madagascar based on the underlying geology : Using GIS to map its distribution and to assess its conservation status. In *Biogeography of Madagascar* : Lourenço, W. R. (ed.). Orstom, Paris. 205–218.
- Elangovan V. H., Raghuram H., Priya E. Y. S. and Marimuthu G. 2002. Postnatal growth, age estimation and development of foraging behaviour in the fulvous fruit bat *Rousettus leschenaulti*. *Journal of Biosciences* 27 : 695–702.
- Elangovan V., Raghuram H., Priya E. Y. S. and Marimuthu G. 2004. Wing morphology and flight performance in *Rousettus leschenaultii*. *Journal of Mammalogy* 85 : 806–812.
- Gautier L. and Goodman S. M. 2003. Introduction to the flora of Madagascar. In *The natural history of Madagascar* : Goodman S. M. and Benstead J. P. (Eds.). The University of Chicago Press, Chicago. 229–250.
- Goodman S.M. and Ganzhorn J.U. 1997. Rarity of figs (*Ficus*) on Madagascar and its relationship to a depauperate frugivore community. *Revue d'Ecologie* 52 : 321–329.
- Goodman S. M. 1999. Notes on the bats of the Réserve Naturelle Intégrale d'Andohahela and surrounding areas of southeastern Madagascar. In a floral and faunal inventory of the Réserve Naturelle Intégrale, Madagascar, with reference to elevational variation. *Fieldiana : Zoology*, new series 94 : 1–9.
- Goodman S. M. and Ganzhorn J. U. 2004. Elevational ranges of lemurs in the humid forests of Madagascar. *International Journal of Primatology* 25 : 331–350.
- Goodman S. M., Andriafidison D., Andrianaivoarivelo A. R., Cardiff S. G., Ifticene E., Jenkins R. K. B., Kofoky A. F., Mbohoahy T., Rakotondravony D., Ranivo J., Ratrimomanarivo F., Razafimanahaka J., Razakarivony V. and Racey P. A. 2005. The distribution and conservation of bats in the dry regions of Madagascar. *Animal Conservation* 8 : 153–165.
- Goodman S. M., Chan L. M., Nowak M. D and Yoder A. D. 2010. Phylogeny and biogeography of western Indian Ocean *Rousettus* (Chiroptera : Pteropodidae). *Journal of Mammalogy* 91 : 593–606.
- Heideman P. D. and Utzurrum R. C. B. 2003. Seasonality and synchrony of reproduction in three species of nectarivorous Philippines bats. *BMC Ecology* 3 : 11–26.

- Herzig–Straschil B. and G.A. Robinson 1978. On the ecology of the fruit bat, *Rousettus aegyptiacus leachi* (A. Smith, 1829) in the Tsitsikama Coastal National Park. *Koedoe* 21 : 101–110.
- Huston M. A., and Wolverton S. 2009. The global distribution of net primary production : Resolving the paradox. *Ecological Monographs* 79 : 343–377.
- Jenkins R. K. B. and Racey P. A. 2008. Bats as bushmeat in Madagascar. *Madagascar Conservation & Development* 3(1) : 22–30.
- Karatas A., 1, Yiğit N., Çolak E. and Kankiliç T. 2003. Contribution to *Rousettus aegyptiacus* (Mammalia : Chiroptera) from Turkey. *Folia Zoologica* 52 : 137–142.
- Kock D. 1978. A new fruit bat of the genus *Rousettus* from the Comoro Islands. *Proceedings of the International Bat Research Conference* 4 : 205–216.
- Kozhurina E. and Il'chenko O. 2010. Secrets of the reproductive biology of flying fox. *Plecotus et al.* 13 : 20–23.
- Kulzer E. 1969. African fruit–eating cave bats. Part I. *African Wild Life* 23 : 39–46.
- Kulzer E. and Storff R. 1980. Schlaf–Lethargie bei dem afrikanischen Langzungenflughund, *Megaloglossus woermanni* Pagenstecher, 1885. *Zeitschrift für Säugetierkunde* 45 : 23–29.
- Kunz T H, Stack M. H. and Jennes R. 1983. A comparison of milk composition in *Myotis lucifugus* and *Eptesicus fuscus* (chiroptera : vespertilionidae). *Biology of Reproduction* 15 : 133–138.
- Kunz T. H., Adams R.A. and Hood W.R. 2009. Methods for assessing size at birth and postnatal growth and development. In *Ecological and behavioral methods for the study of bats* : Kunz, T.H. and Parsons, S. (Eds.). Baltimore : Johns Hopkins University Press. 273–314.
- Kwiencinski G. G. and Griffiths T. A. 1999 : *Rousettus aegyptiacus*. *Mammalian Species* 611 : 1–9.
- Lammers A.R., Dziech H.A. and German R.Z. 2001. Ontogeny of sexual dimorphism in *Chinchilla lanigera* (Rodentia : Chinchillidae). *Journal of Mammology* 82 : 179–189.
- Lim B. K. 1997. Morphometric differentiation and species status of the allopatric fruit-eating bats *Artibeus jamaicensis* and *A. planirostris* in Venezuela. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 32 : 65–71.
- Lindenfors P. 2002. Sexually antagonistic selection on primate size. *Journal of Evolutionary Biology* 15 : 595–607.
- Lourenço W. R. (ed.) 1996. *Biogéographie de Madagascar*. ORSTOM, Paris, 588 p.

- MacKinnon J.L., Hawkins C.E. and Racey P.A. 2003. Pteropodidae, fruit bats. In *The natural history of Madagascar* : Goodman S. M. and Benstead J. P. (Eds.). The University of Chicago Press, Chicago. 1299–1302.
- Marques-Aguiar S. A. 1994. A systematic review of the large species of *Artibeus* Leach, 1821 (Mammalia: Chiroptera), with some phylogenetic inferences. *Zoologia* 10 : 3–83.
- Mutere F.A. 1968a. The breeding biology of the fruit bat *Rousettus aegyptiacus* E. Geoffroy living at 0°22'S. *Acta tropica* 25 : 97–108.
- Mutere F.A. 1968b. Breeding cycles in tropical bats in Uganda. *Journal of Applied Ecology* 5 : 8–9.
- Mutere F. A. 2009. The breeding biology of equatorial vertebrates: reproduction in the fruit bat, *Eidolon helvum*, at latitude 0°20'N. *Journal of Zoology* 153(2) : 153–161.
- McNab B. K. 2010. Geographic and temporal correlations of mammalian size reconsidered : A resource rule. *Oecologia* 164 : 13–23.
- Myers P. 1978. Sexual dimorphism in size of vespertilionid bats. *The American Naturalist* 112 : 701–711
- Norberg U. M. and Rayner J. M. V. 1987. Ecological morphology and flight in bats (Mammalia : Chiroptera) : Wing adaptations, flight performance, foraging strategy and echolocation. *Philosophical Transactions of the Royal Society London, B. Biological Sciences* 316 : 335–427.
- Peter A. L., Hoofer S. R., Bozeman M. C., Pedersen S. C., Genoways H. H., Phillips C. J., Pumo D. E., and Baker R. J. 2007. Phylogenetics and phylogeography of the *Artibeus jamaicensis* complex based on cytochrome-b dna sequences. *Journal of Mammalogy*, 88(3) : 712–727.
- Phillips C. J. 1968. Systematics of Megachiropteran bats in the Solomon Islands. *University of Kansas Publications, Museum of Natural History* 16 : 777–837.
- Racey P.A. 1988. Reproductive assessment in bats. In *Ecological and behavioral methods for the study of bats* : Kunz, T.H. (Ed.). Washington, DC. Smithsonian Institution Press. 31–43.
- Racey P. A. and Entwistle A. C. 2000. Life–history and reproductive strategies of bats. In *Reproductive biology of bats* : Crichton, E.G. and Krutzsch, F.P. (eds). Boston, Academic Press. 363–414.
- Raheriarisena, M. 2005. Régime alimentaire de *Pteropus rufus* (Chiroptera : Pteropodidae) dans la région sub–aride du sud de Madagascar. *Revue d'Ecologie* 60 : 255–264.
- Rajeriarison C. 1996. Aperçu bibliographique sur l'origine et les affinités de la flore malgache. In *Biogéographie de Madagascar* : Lourenço W.R. (Ed.). Orstom. Paris. 195–203.

- Rakotonandrasana E. N. and Goodman S. M. 2007. Bat inventories of the Madagascar offshore islands of Nosy Be, Nosy Komba and Ile Sainte-Marie. *African Bat Conservation News* 12 : 6–10.
- Ralisata M., Andriamboavonjy F. R., Rakotondravony D., Ravoahangimalala O. R., F. H. Randrianandrianina and Racey P. A. 2010. Monastic *Myzopoda* : The foraging and roosting ecology of a sexually segregated Malagasy endemic bat. *Journal of Zoology* 282 : 130–139.
- Ralls K. 1976. Mammals in which females are larger than males. *Quarterly Review of Biology* 51 : 245–276.
- Ransome R. D. and McOwat T. P. 1994. Birth timing and population changes in greater horseshoe bat colonies (*Rhinolophus ferrumequinum*) are synchronized by climatic temperature. *Zoological Journal of the Linnean Society* 112 : 337–351.
- Ratrimomanarivo F. H., Goodman S. M., Hoosen N., Taylor P. J. and Lamb J. 2008. Morphological and molecular variation in *Mops leucostigma* (Chiroptera : Molossidae) of Madagascar and the Comoros : Phylogeny, phylogeography and geographic variation. *Mitteilungen aus dem Hamburgischen Zoologischen Museum* 105 : 57–101.
- R Development Core Team. R 2008. A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>
- Rojas-Martínez A., Valiente-Banuet A., Arizmendi Ma. Del C. and Alcántara-Egúren A. 1999. Seasonal permanence of the nectar-feeding bat *Leptonycteris curasoae* in North America : Does a generalised migration pattern really exist? *Journal of Biogeography* 26 : 1065–1078.
- Rookmaaker L. C. and Bergmans W. 1981. Taxonomy and geography of *Rousettus amplexicaudatus* (geoffroy, 1810) with comparative notes on sympatric congeners (Mammalia, Megachiroptera). *Beaufortia* 31 : 1–29.
- Schulte-Hostedde, A.E., Millar, J.S. and Hickling, G.J. 2001. Sexual dimorphism in body composition of small mammals. *Canadian Journal of Zoology* 79 : 1016–1020.
- Sidney S. 1956. Nonparametric statistics for the behavioral sciences. New York : McGraw-Hill 429–445.
- Smith, A.P. 1997. Deforestation, fragmentation, and reserve design in western Madagascar. In *Tropical Forest Remnants, Ecology, Management and Conservation of fragmented Communities* : Lawrence, W. and Bierregaard O.W. (eds.). University of Chicago Press, Chicago. 415–441.

- Stockwell E. F. 2001. Morphology and flight manoeuvrability in New World leaf-nosed bats (Chiroptera : Phyllostomidae). *Journal of Zoology* 254 : 505–514.
- Storz J. F., Balasingh J., Bhat H. R., Nathan P. T., Doss P. P. S., Prakash A. A. and Kunz T. H. 2001. Clinical variation in body size and sexual dimorphism in an Indian fruit bat, *Cynopterus sphinx* (Chiroptera : Pteropodidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 72 : 17–31.
- Thomas D. W. and Marshall A. G. 2009. Reproduction and growth in three species of West African fruit bats. *Journal of Zoology* 202(2) : 265–281
- Thorntwaite C. W. 1948. An approach toward a rational classification of climate. *Geographical Review* 38 : 55–94.
- Trouchaud J.P. 1965. *Contribution à l'étude géographique de Madagascar. La basse plaine du Mangoky*. Diplôme d'études supérieures de Géographie. ORSTOM, Université de Montpellier.

VII. LA DISCUSSION GENERALE

7.1. SYNTHÈSE

Ces travaux de recherche portent sur l'écologie alimentaire, la génétique des populations, la variabilité morphologique et la phénologie de reproduction de *Rousettus madagascariensis* en vue d'élucider le rôle de cette espèce dans la régénération naturelle des plantes forestières malgaches et d'étudier sa nuisibilité sur les fruits à valeur économique.

C'est la première étude sur l'écologie de cette espèce sur l'ensemble de la Grande Ile. L'objectif de cette étude est d'examiner l'écologie de l'animal dans des écosystèmes où une variété de plantes endémiques et exotiques coexiste. Ces écosystèmes sont aussi soumis à différents régimes climatiques : pluvieux et moins chaud à l'Est, chaud et sec à l'Ouest, climat plus aride que l'Est en moyenne altitude mais moins chaud qu'à l'Ouest. Par ces travaux, nous avons cherché à apporter des éléments de réflexion sur l'effet de la variation d'habitat sur l'écologie, la génétique et la phénologie de la reproduction de *R. madagascariensis* et notamment nous avons étudié la dépendance alimentaire de cette espèce vis-à-vis de la forêt naturelle malgache.

Quatre grandes conclusions peuvent être tirées de cette étude sur *R. madagascariensis* : i) elle utilise les habitats forestiers, fragmentés et terrains de culture; ii) elle a une préférence plus marquée envers les espèces forestières et pionnières qu'envers celles d'importance commerciale ; iii) elle présente une faible mais significative structuration génétique qui ne varie pas avec la distance géographique ; iv) une faible structuration qui contraste avec une morphométrie qui est dépendante de la latitude et de l'altitude. Cette différenciation morphométrique pourrait s'expliquer par de la plasticité phénotypique ou de la sélection naturelle en présence de flux de gènes importants.

L'utilisation d'un habitat par des individus de *R. madagascariensis* est importante à considérer car c'est la base de l'établissement et la condition de la longévité de la colonie. Nos résultats suggèrent que *R. madagascariensis* a un régime très divers qui lui permet de s'adapter aux différents habitats voire même aux différentes régions (habitat et région constitue l'éco-géographie) avec des types de végétation et d'habitat considérablement différents, notamment la forêt dense sèche caducifoliée largement intacte de l'Ouest, la forêt littorale sur les côtes, la forêt humide sempervirente largement intacte de l'est, la végétation mixte de la plaine du Nord-est, des plantes introduites et formations dégradées. Sa capacité à se déplacer entre les milieux

forestiers naturels et ceux transformés par l'homme (champs agricoles ou formation secondaire) peuvent alors être interprétés comme une accommodation à une mosaïque d'habitats. *Rousettus madagascariensis* mange des fruits, des feuilles, du nectar et/ou pollen et avalerait des insectes (apport en protéine) contenus dans les fruits (Agaonidae pollinisatrices de *Ficus sp.*) et les fleurs. Au moins 12 espèces de plantes exotiques et 10 espèces autochtones font partie du régime alimentaire de *R. madagascariensis*. En se nourrissant, les chauves-souris mâchent les pulpes avant de les presser contre la voûte de leur palais, ingurgitent le jus et la pulpe molle. Elles crachent la fibre restante sous forme de boulette. La nuit, elles sont extrêmement mobiles et sont capables de longs vols en exploitant les ressources alimentaires saisonnières. La distance de vol nocturne entre son gîte et le site d'alimentation est au moins de 8 km. Ces longs trajets de vol de *R. madagascariensis* peuvent être associés à l'insuffisance de fruits des forêts naturelles malgaches à certaines périodes de l'année à cause de leur phénologie de fructification imprévisible (Canale et al. 2011). Un vol rapide et direct depuis le gîte au champ de bananes en floraison constitue un exemple de ce long trajet nocturne.

Malgré la fragmentation des écosystèmes forestiers de Madagascar, les plantes introduites et pionnières susceptibles d'être nourriture de *R. madagascariensis* pourraient faciliter son mouvement entre colonies éloignées. Etant donné que *R. madagascariensis* mange les fruits exotiques/commerciaux, nous supposons que sa survie ne dépend pas entièrement de ces derniers car les fruits exotiques n'existent qu'à certaines périodes de l'année. La plupart des fruits commercialisables (Ex. *Litchi chinensis*, *Diospyros kaki*, *Syzygium malaccense*) de l'est sont mûrs pendant la saison humide. Les autres fruits forestiers ou quelquefois pionniers des habitats dégradés (Ex. *Zizyphus jujuba* du Nord-ouest de Madagascar) fournissent des aliments en continu à ces animaux surtout au cours de la saison sèche. Des feuilles et des fruits forestiers sont mangés surtout pendant la période sèche. Nous constatons que la survie de *R. madagascariensis* dépend principalement de la forêt naturelle intacte ou au moins des formations secondaires avec leurs espèces pionniers et non exclusivement des plantes exotiques. Cela n'empêche que la perte de son domaine vital originel, notamment la forêt naturelle, l'amène à chercher des fruits du verger. Ainsi, nous supposons que l'importance des dégâts sur les fruits commerciaux dépend inversement de l'importance de la taille de leur site d'alimentation naturel. Mais au fur et à mesure que l'habitat naturel disparaît, la taille de la population diminue dans le même sens jusqu'à sa disparition, autrement dit *R. madagascariensis* ne peut pas survivre aux dépends des habitats n'ayant que les fruits à valeur économique qui sont saisonniers.

Nos recherches montrent la considération d'au moins deux facteurs pour que la prédation des fruits à valeur économique soit un véritable menace pour les agriculteurs. La proximité du gîte de *R. madagascariensis*

Les mécanismes sous-tendant la reproduction saisonnière de *R. madagascariensis* demeurent énigmatiques. La reproduction de cette espèce et sa relation avec les facteurs environnementaux ont été étudiés à travers des observations d'organes externes et l'abondance de jeunes sur le site de capture. Nous avons constaté que la plupart des femelles mettent bas une fois et un nouveau-né par an. Il est suggéré que l'accouplement se passe jusqu'à la fin du mois d'octobre. Dans cette étude, on a constaté aussi que la reproduction des femelles se passe à la même période chaque année dans presque tous les sites d'échantillonnage. En effet, le facteur climatique, notamment la pluie, semble contrôler la période de reproduction de *R. madagascariensis*. Les résultats indiquent que : la reproduction est fortement saisonnière et prévisible, mais les autres facteurs qui conditionnent l'œstrus méritent d'être analysés surtout s'ils varient en fonction des autres signaux plus stables (comme la photopériode) et non du climat qui opère des changements soudains et imprévisibles. Néanmoins, la période de reproduction est fortement liée à la disponibilité alimentaire. La mise-bas et la lactation se passent généralement pendant la saison de pluie pendant laquelle les arbres forestiers notamment des formations secondaires et/ou introduits donnent des fruits.

L'absence de structuration génétique entre sites éloignés peut être expliquée par la dispersion des individus. Il existe cependant des différences phénotypiques liées à l'altitude ou la latitude qui révèlent soit un faible taux de migration associé à la sélection pour des morphologies différentes (Roff et Fairbairn 1991), soit à la plasticité phénotypique liée aux variations des conditions environnementales.

7.2. IMPLICATION SUR LA CONSERVATION

Toutes les chauves-souris malgaches sont considérées comme gibier selon la législation malgache (Rakotoarivelo et al. 2011) et il y a une saison de chasse définie pour chauves-souris frugivores (Durbin 2007 : 1er mai - 1 Septembre). Cependant, la saisonnalité de la chasse chauve-souris semble dépendre essentiellement de la disponibilité des chauves-souris sur les lieux de chasse (sites d'alimentation) plutôt que la saison de chasse légale. Le caractère éphémère de fruits et de fleurs signifie que certains chasseurs ne peuvent capturer les chauves-souris que pendant un certain moment de l'année, ce qui peut, comme dans le cas de kapok

(*Ceiba pentandra* Malvaceae), coïncident avec la saison de chasse (Jenkins et Racey 2009). La période où les litchis (*Litchi chinensis* Sapindaceae) sont mûres (de Novembre à Janvier) offre la possibilité pour les chasseurs pour intercepter chauves-souris frugivores en dehors de la saison de chasse.

La grande taille de Madagascar et la répartition géographique (gîtes loins et introuvables ou accès difficile) des gîtes de chauves-souris empêche naturellement une chasse annuelle bien organisée comme chez les autres petites îles voisines îles océaniques (Brooke et Tschapka 2002). La colonie peut être mieux gérée si les traditions locales sont prises en compte, ce qui exigerait une flexibilité régionale dans le calendrier et la durée des périodes de chasse. Compte tenu de la variabilité des saisons de fructification de nombreuses plantes, des études devraient être menées dans plusieurs régions avant que ces mesures puissent être considérées. Toutes les recommandations sur la façon de réconcilier la protection des fruits commercialisés et la chasse aux chauves-souris doivent également être fondées sur des évaluations régionales en fonction aussi des dégâts causés par ces animaux, de telles données sont encore manquantes. Des informations à long terme sur le changement démographique et de l'occupation du perchoir sont également nécessaires parce l'impact de la chasse sur la colonie peut être exacerbée par la perte de gîtes due à l'expansion des terrains agricoles.

Un certain nombre de publications sur l'exploitation durable des mammifères terrestres existent (Robinson et Bennett 2004), mais très peu sont celles relatives aux chauves-souris, une exception étant celle de Halstead (1977). Certaines des données, telles que la capacité de charge de la colonie, qui sont nécessaires pour procéder à des évaluations de la gestion durable en utilisant des méthodes classiques sont difficiles à obtenir pour les chauves-souris.

Étant donnée la grande mobilité de *R. madagascariensis* les dortoirs et sites d'alimentation ont besoin d'être protégés de la chasse, de la perte d'habitat (par exemple la conversion des terres agricoles) et d'autres perturbations (par exemple des visiteurs de grottes). Les gîtes d'importance écologique dans toutes les régions de Madagascar doivent être identifiés et des plans de conservation proposés.

7.3. RECOMMANDATIONS POUR LA GESTION DE L'ESPECE ET LES FUTURES RECHERCHES

7.3.1. Recommandations

Rousettus madagascariensis constitue un élément essentiel à la régénération naturelle des écosystèmes forestiers malgaches car i) elle assure la dissémination des graines sur de large distance, d'où son influence considérable aussi bien sur la structure du peuplement végétal de son domaine vital que sur le fonctionnement et le maintien de l'écosystème forestier malgache. ii) Sa survie ne dépend pas exclusivement des ressources forestières et sa capacité d'adaptation à d'autres types de ressources et d'habitats lui permet d'ajuster sa phénologie de reproduction avec la période de pluie. D'ailleurs, la reproduction de cette espèce semble être associée à la disponibilité des plantes pionnières, ou des formations secondaires et exotiques qui ont, elles aussi une phénologie synchronisée avec la saison de pluie de l'île. Bref, *R. madagascariensis* ne dépend pas entièrement de la ressource forestière pour survivre mais favorise la dispersion des graines de la forêt malgache.

En dépit de sa dépendance lâche envers les fruits forestiers, le dortoir de *R. madagascariensis* semble être associé à la forêt naturelle car leur gîte se trouve souvent à l'intérieur de la forêt naturelle ou tout au moins à une distance inférieure à 20 km. La forêt naturelle pourrait offrir au gîte un microclimat propice à la survie de cette espèce et un endroit isolé de la perturbation humaine, la protection des habitats naturels aux alentours de son gîte étant supposé nécessaire. L'abandon du gîte suite à la déforestation ou à la chasse intensive pourrait compromettre le rôle mentionné ci-dessus joué par cette espèce.

En guise de conclusion, nos résultats mettent en évidence une partie de l'histoire naturelle et de l'écologie de *R. madagascariensis* et permettent de mieux expliciter l'importance de sa conservation et de ses habitats naturels. D'autres recherches méritent d'être entreprises dont quelques-unes sont citées ci-dessous.

Les dortoirs diurnes et les sites d'alimentation utilisés par cette espèce sont tous des sites importants et il est indispensable de créer des programmes pour la protection de ces sites, surtout les grottes utilisées comme dortoirs diurnes et les habitats qui les entourent.

La chasse de *R. madagascariensis* au niveau du gîte ne devrait pas continuer à moins que la recherche ne démontre la capacité de cette espèce à maintenir une taille stable de la population en dépit d'une certaine pression de chasse.

Le programme de reboisement devrait se concentrer sur la plantation d'espèces fournissant des aliments alternatifs pour les chauves-souris afin de diminuer les dégâts sur les fruits commerciaux. La déforestation et la perte d'habitat sur une vaste étendue diminue les aires de distribution des animaux frugivores, ce qui aurait entraîné l'absence de *R. madagascariensis* sur les Hautes Terres centrales (Goodman 2011). En effet, la plantation d'espèces d'arbres forestiers plus diversifiées, plus particulièrement des espèces autochtones, devraient être encouragée afin de supprimer progressivement les espèces envahissantes.

Il est possible que *Rousettus* soit vue comme une espèce nuisible dans l'avenir et donc un programme d'éducation continue au niveau de la population locale, en insistant sur l'interdépendance des chauves-souris frugivores, la forêt et la population locale est essentiel pour maintenir une bonne image publique de *R. madagascariensis*.

7.3.2. Futures recherches

Nous suggérons qu'il serait important d'entamer une étude sur la dynamique des populations de *Rousettus madagascariensis* qui intégrerait l'impact de la chasse sur les gîtes. Cette étude vise à comprendre, prévoir ou décrire la dynamique naturelle des colonies après une perturbation (naturelle : cyclonique ou anthropique : défrichement, chasse et perte d'habitat) dans un contexte où les individus sont capables de franchir des milieux ouverts, c'est-à-dire non occupés par les espèces consommées par la guildes des frugivores malgaches. Cette étude nous informera en particulier sur les stratégies de reproduction de cette espèce, et permettra d'évaluer la différence de comportement de dispersion entre cette espèce et d'autres frugivores dont les mouvements sont freinés par des barrières physiques comme les milieux ouverts ; il s'agit notamment des lémuriniens et oiseaux coexistants avec *R. madagascariensis* dans le même biotope. On évoquera par la suite la résilience d'une population de *R. madagascariensis* pour mieux connaître sa capacité à se reconstituer suite à une perturbation naturelle ou anthropique (chasse ou défrichement intensif).

En outre, une quantification de la consommation de fruits commercialisés dans les différentes zones de l'île constitue une autre recommandation. Nous avons constaté dans quelques sites un risque de prédation des fruits par *R. madagascariensis* qu'il y aurait à assimiler, la perte de récolte (dommage). A Madagascar, ce risque n'est souvent pas évité dans la recherche agronomique ; et la "nuisibilité" contribue malheureusement à des confusions. Alors, l'élément utile pour éviter cette confusion est l'évaluation ou la quantification des pertes de récolte. Ce qui

fait appel à une théorie : la fonction de dommage qui exprime les pertes de récoltes mesurées dans un peuplement végétal en fonction de la quantité de dégât. La construction d'une telle fonction exige une méthode adéquate pour estimer les pertes de récoltes par les chauves-souris : par exemple, l'estimation de dommage en biomasse par unité de surface. La fonction de dommage joue un rôle central pour la protection des plantes cultivées contre leurs prédateurs (*R. madagascariensis*) : c'est elle en effet qui sous-tend la théorie du seuil en protection des cultures (Zadoks 1985), utile pour établir la liste des sites producteurs des fruits commercialisés où les dégâts causés par les chauves-souris sont assez importants pour mener un projet de protection des fruits sans porter préjudice à la population de chauves-souris considérées comme menacées.

Les points suivants constituent également nos recommandations pour les futures recherches :

- la dynamique de population : étudier la gestion de la chasse dans le gîte pour déterminer l'effectif pouvant être chassé et la fréquence des périodes de chasse pour que la taille de la population reste stable et ne soit pas affectée par la perturbation au cours de la chasse ;
- déterminer les mouvements de *R. madagascariensis* par marquage-recapture. Comment la composition de la flore (plantes exotiques et autochtones) affecte le mouvement et l'abondance de l'espèce ?
- évaluer l'importance écologique des chauves-souris frugivores en comparant la structure génétique de plantes disséminées par ces espèces à celle de plantes disséminées par des frugivores terrestres ;
- déterminer la relation entre abondance des dommages des fruits commercialement important et la proximité de gîte de *Rousettus madagascariensis* ;
- examiner l'efficacité des méthodes et stratégies de contrôle des chauves-souris frugivores pour minimiser la nuisibilité et informer les agriculteurs sur les résultats obtenus ;
- examiner les risques de transfert de maladie par contamination des fruits partiellement entamés par les chauves-souris ;
- déterminer comment l'existence des espèces introduites affecte la survie de *R. madagascariensis* sur des aires où il y a i/ association de plantes autochtones et introduites (commercialement importantes ou non) ii/ ou uniquement des plantes introduites.

7.4. REFERENCES

- Brooke A. P. and Tschapka M. 2002. Threats from overhunting to the flying fox *Pteropus tonganus* (Chiroptera: Pteropodidae) on Niue Island, South Pacific Ocean. *Biological Conservation* 103 : 343-348.
- Canale C. I., Perret M., Théry M. and Henry P.Y. 2011. Physiological flexibility and acclimation to food shortage in a heterothermic primate. *The Journal of Experimental Biology* 214 : 551–560.
- Durbin J. 2007. New legislation for the protection of Malagasy species. *Lemur News* 11: 4-6.
- Halstead, L. B. 1977. Fruit bats an example of wildlife management. *The Nigerian Field* 42 : 50-56.
- Goodman S. M. 2011. *Les chauves-souris de Madagascar : Guide de leur distribution, biologie et identification*. Association Vahatra, Antananarivo, Madagascar. 129 Pp.
- Halstead L. B. 1977. Fruit bats – an example of wildlife management. *The Nigerian Field* 42 : 50-56.
- Jenkins R. K. B. and Racey P. A. 2008. Bats as bushmeat in Madagascar. *Madagascar Conservation and Development* 3 : 22–30.
- Rakotoarivelo A. R., Razafimanahaka J. H., Rabesihanaka S., Jones J. P. G. and Jenkins R.K. B. 2011. Lois et règlements sur la faune sauvage à Madagascar : Progrès accomplis et besoins du futur. *Madagascar Conservation and Development* 6 : 37-44.
- Robinson J. G. and Bennett E. L. 2004. Having your wildlife and eating it too: an analysis of hunting sustainability across tropical ecosystems. *Animal Conservation* 7 : 397-408.
- Roff D. A. and Fairbairn D. J. 1991. Wing dimorphisms and the evolution of migratory polymorphisms among the Insecta. *American Zoologist* 31 : 243-251.
- Vardon M. J. and Tidemann C. R. 1995. Harvesting of flying-foxes (*Pteropus* spp.) in Australia: could it promote the conservation of endangered Pacific island species? In: *Conservation through Sustainable use of wildlife* (G. Grigg, P. Hale & D. Lunney eds.). Brisbane, Australia. 82–85.
- Zadoks J.C. 1985. On the conceptual basis of crop loss assessment : the threshold theory. *Annual Review of Phytopathology*, 23, 455-473.

LISTE DES FIGURES

Figure 1. 1 : Aire de distribution (à gauche, source : IUCN/SSC Global Mammal Assessment 2005) delimitée en rouge et illustration (par Andrianaivoarivelo à droite) de <i>Rousettus madagascariensis</i>	5
Figure 1. 2 : Colonie de <i>Rousettus madagascariensis</i> dans une grotte à l'est de Madagascar (Cliché par Radosoa A. R. Andrianaivoarivelo).	7
Figure 2. 1 : Vegetation and transect map of Maromizaha study site, eastern Madagascar.	23
Figure 2. 2 : Movements of two <i>Rousettus madagascariensis</i> determined by radio tracking from the time the bats emerged to feed until they returned to the roost.....	32
Figure 2. 3 : Minimum convex polygons of radio fixes for an adult female (grey line) and male (black line) <i>Rousettus madagascariensis</i> determined by radio telemetry. The female bat had a larger home range that overlapped with the male.	33
Figure 2. 4 : Mean ("SE) body mass of adult male and female <i>Rousettus madagascariensis</i> caught returning to a cave roost in Maromizaha, eastern Madagascar. Monthly average rainfall (black line) is given for the period 1984–1994 from a weather station 3 km west of Maromizaha. Adult males (open bar) were heavier than females (shaded bar) except during pregnancy.....	34
Figure 3. 1 : Flight cage with <i>Rousettus madagascariensis</i> feeding on a <i>Ficus polita</i> fruit. (Photo by Radosoa A. Andrianaivoarivelo.).....	48
Figure 3. 2 : Mean number in percent of fruits eaten by an individual <i>Rousettus madagascariensis</i> in the cage. Bars represent the standard errors.....	50
Figure 4. 1 : Arrangement des fruits et chauves-souris (<i>Rousettus madagascariensis</i>) choisissant parmi les fruits proposés dans la volière. (Cliché par Andoniaina R. Andrianaivoarivelo.)	67
Figure 4. 2 : Boîtes à moustaches des variables durée de prise de nourriture (a), masse (b) et nombre (c) de fruits mangés par espèces de fruits (<i>Ficus sakalavarum</i> et <i>Ziziphus jujuba</i>) et par individu de <i>Rousettus madagascariensis</i> . Les traits gras représentent les médianes et les quartiles supérieur et inférieur correspondent aux traits inférieur et supérieur de la boîte. Les losanges correspondent aux valeurs extrêmes supérieures. L'astérisque indique une différence significative entre les deux espèces.....	72
Figure 5. 1 : Eight sampling localities within this study; grey shading indicates the probable range of <i>Rousettus madagascariensis</i> (Garbutt 2007).	94
Figure 5.2 : Negative relationship between PCR amplification success rate and FIS. Open lozenge indicates loci with detected null alleles (Andrianaivoarivelo <i>et al.</i> 2008).....	95
Figure 6. 1 : Carte de Madagascar montrant les intervalles d'altitude et les diagrammes de température et de pluviométrie mensuelles relatives des sites de capture regroupés (source des données météorologiques : Chaperon <i>et al.</i> 1993).	110
Figure 6. 2 : Femelles adultes de <i>Rousettus madagascariensis</i> (a) avec un nouveau-né et (b) parturiente (Cliché par A. R. Andrianaivoarivelo).....	111

Figure 6. 3 : Relation entre la masse corporelle et l'altitude chez les femelles (gauche) et mâles (droite) de <i>Rousettus madagascariensis</i>	118
Figure 6. 4 : Variations de la masse corporelle chez <i>Rousettus madagascariensis</i> en fonction du site biogéographique chez les femelles (gauche) et mâles (droite) adultes pendant les saisons sèche et humide. Les astérisques indiquent une différence significative ($P < 0,001$) entre les deux saisons et les chiffres sont les effectifs des échantillons. Les traits gras représentent les médianes et les quartiles supérieur et inférieur correspondent aux traits inférieur et supérieur de la boîte.	119
Figure 6. 5 : Relation entre la masse corporelle et la latitude chez les femelles (gauche) et les mâles (droite) adultes de <i>Rousettus madagascariensis</i> . « r » indique la valeur de la coefficient de corrélation.	119
Figure 6. 6 : Variations (boîtes à moustaches) chez <i>Rousettus madagascariensis</i> de la longueur de l'avant-bras en fonction du site biogéographique chez les femelles et les mâles adultes. Les astérisques et les chiffres indiquent une différence significative ($P < 0,001$) entre les deux sexes et les chiffres sont les effectifs des échantillons. Les traits gras représentent les médianes et les quartiles supérieur et inférieur correspondent aux traits inférieur et supérieur de la boîte. ...	120
Figure 6. 7 : Relation entre la longueur de l'avant-bras et l'altitude (gauche) et la latitude (droite) de <i>Rousettus madagascariensis</i> mâles et femelles adultes. « r » indique la valeur de la coefficient de corrélation.	120
Figure 6. 8 : Conditions de reproduction chez <i>Rousettus madagascariensis</i> et effectif des femelles (en %) dans les cinq sites de captures regroupés (sans ceux du Nord-est en saison sèche et du Sud-est où les données sont manquantes) au cours des saisons sèche et humide. Les chiffres entre parenthèses représentent l'effectif des chauves-souris capturées durant les deux saisons. Les femelles parturientes sont des adultes ni gestantes ni allaitantes. Les astérisques indiquent des différences significatives entre saisons sèche et humide d'un même site de capture avec le test exact de Fisher ($P < 0,001$).	124
Figure 6. 9 : Sites d'échantillonnage chez <i>Rousettus madagascariensis</i> , des classes d'âge et de sexe en saisons sèche et humide. Chaque diagramme représente le pourcentage de sexe et âge à chaque saison de capture et dans chaque site de regroupement géographique.	125

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2. 1 : The numbers of <i>Rousettus madagascariensis</i> of different reproductive status caught returning to a cave roost in Maromizaha, eastern Madagascar (2004–2005).....	27
Tableau 2. 2 : The timing and frequency of occurrence of seeds of plant species recovered in the faeces of <i>Rousettus madagascariensis</i> in Maromizaha, eastern Madagascar (2004–2005).	27
Tableau 2. 3 : Fruiting plant species observed in a given month on a transect and in bat faeces (in bold font) in Maromizaha, eastern Madagascar (2004–2005).....	31
Tableau 3. 1 : Descriptive statistics (mean \pm standard deviation and sample sizes) of the characteristics of different fruit presented to <i>Rousettus madagascariensis</i> in a flight cage. Each species is classed as either of commercial importance or not. Native species are marked with ‘*’	49
Tableau 3. 2 : Chemical components values and some fruit factors of the ten fruit species used during the flight cage experiments. Preferred fruits are in bold.....	51
Tableau 3. 3 : Summary of the fruit species most preferred by <i>Rousettus madagascariensis</i> with the proportion of eaten fruits and the values for characteristics that have higher values than the other species.....	52
Tableau 4. 1 : Comparaison de la morphométrie : longueur, poids et taux de sucre (en degré Brix) des fruits de <i>Ziziphus jujuba</i> et de <i>Ficus sakalavarum</i> . Le t-test représente les résultats du test de Student.....	70
Tableau 4. 2 : Comportement de <i>Rousettus madagascariensis</i> mangeant les fruits de <i>Ficus sakalavarum</i> et de <i>Ziziphus jujuba</i> . Les chiffres entre parenthèses sont les pourcentages par rapport au total des fruits entamés.....	70
Tableau 5. 1 : Primer sequences with fluorescent dye labels, optimized annealing temperature, locus characteristics, and GenBank accession numbers of 22 <i>Rousettus madagascariensis</i> —specific microsatellite loci.....	86
Tableau 5. 2 : Number (k) of alleles detected, allelic richness (A.R.), observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosities, P-values and standard errors (SE) for Hardy–Weinberg Exact Tests (HWE), and among 22 microsatellite loci screened across a population of 37 individuals of <i>Rousettus madagascariensis</i> from southeastern Madagascar.....	87
Tableau 5. 3 : Summary of population genetic parameter estimates : Expected (H_e) heterozygosities, Allelic richness (All_AR)? mean allelic richness per site (Mean_AR), individual (F_{IS}) and overall (F_{ST}) degree of genetic differentiations and the percent of the polymerase chain reaction (PCR) success, generated from 18 microsatellite loci of <i>Rousettus madagascariensis</i> for the 8 sampling localities. Asterisks indicate loci with detected null alleles (Andrianavoarivelo <i>et al.</i> 2008).	96
Tableau 5. 4 : Pairwise F_{ST} (above diagonal) and geographic distances (log Distance : km), (below diagonal) among the eight <i>Rousettus madagascariensis</i> sampling sites.	97

Tableau 6. 1 : Résumé des caractères bioclimatiques et des coordonnées géographiques, des sites de regroupement et zones biogéographiques de captures de <i>Rousettus madagascariensis</i> (Madagascar).	115
Tableau 6. 2 : Effectif de chauves-souris capturées dans chaque type d'habitat et regroupement géographique.	116
Tableau 6. 3 : Les meilleurs modèles linéaires ont été choisis en fonction de la valeur d'AIC par sexe et pour chacune des trois variables morphologiques (masse corporelle, indice de masse corporelle et longueur de l'avant-bras) chez <i>Rousettus madagascariensis</i> . Le tableau donne le modèle retenu par la fonction 'step' de R. Les dernières colonnes donnent le résultat (test ANOVA) de la comparaison de modèles qui testent un effet région biogéographique et un effet regroupement géographique.....	117
Tableau 6. 4 : Moyennes, écart-types, mesures minimum et maximum des deux caractères morphologiques des individus adultes de <i>Rousettus madagascariensis</i> . Le test ANOVA compare les variances des moyennes entre ces mesures en fonction des variables : saisons, sites biogéographiques et sexes. Les différences significatives entre les variables sont marquées en gras	121
Tableau 6. 5 : Sex-ratios (effectif des mâles/effectif des femelles) chez <i>Rousettus madagascariensis</i> pour chaque site géographique, des individus, jeunes (y compris les adultes non-reproducteurs) et adultes capturés à l'entrée et en dehors des gîtes. La déviation des sex ratio par rapport à 1 a été testée à l'aide de tests binomiaux (NS : non significatif ; * : $P < 0,05$; ** : $P < 0,01$; *** : $P < 0,001$). Le signe « - » est utilisé quand il n'y a pas de donnée.	123

ANNEXES

Annexe 1 : Localisation géographique, habitats naturels avoisinants et année d'observation des gîtes (grottes) de *Rousettus madagascariensis*.

District	Nom du site	Longitude	Latitude	Altitude	Colonie	Gîte	Chasse	Habitat	Année	Source	SAPM
Ambatondrazaka	Ampandroana	E48°47'39.5"	S17°47'00.9"	948 m		Occupé	oui	Forêt humide	2006	MV	CAZ
Ambatondrazaka	Andohanitalaviagnina	E48°41'09.2"	S17°51'49.1"	1159 m		Abandonné	oui	Forêt humide	2006	MV	CAZ
Anosibe An'Ala	Androrangabe	E48°2'27.6"	S19°27'12.2"	950 m	83	Abandonné	oui	Forêt humide	2007	AM	
Analalava	Anjanjavy	E47°14'26.0"	S15°05'55.7"	50 m		Occupé		Forêt sèche	2002	GM	
Anosibe An'Ala	Ambohimanjaka	E47°59'32.6"	S19°27'44.4"	611 m	800	Occupé	oui	Forêt humide	2007	AM	
Anosibe An'Ala	Sahavao	E47°57'41.2"	S19°30'13.4"	1087 m	350	Occupé	oui	Forêt humide	2007	AM	
Anosibe An'Ala	Valanirana	E48°00'59.7"	S19°39'12.2"	927 m	0	Abandonné		Forêt humide	1997	AM	
Anosibe An'Ala	Safotany	E47°58'05.1"	S19°27'21.9"	899 m	0	Abandonné		Forêt humide	2000	AM	
Anosibe An'Ala	Ambatofotsy	E48°18'44.0"	S19°32'24.2"	697 m	750	Occupé	oui	Forêt humide	2007	AM	
Anosibe An'Ala	Antsahahety	E48°01'43.6"	S19°21'48.8"	821 m	4200	Occupé	oui	Forêt humide	2007	AM	
Antsalova	Bemaraha	E44°46'04.1"	S19°00'35.0"	100 m	4000	Occupé		Forêt sèche	2006	MV	PNB
Antsiranana II	Milaintety	E49°02'21.2"	S12°57'29.1"		1600	Occupé	oui	Forêt sèche	2006	Cardiff	RSA
Antsiranana II	Andavaka Ankôhatra				1600	Occupé	no	Forêt sèche	2006	Cardiff	RSA
Antsiranana II	Mahamasina				1600	Occupé	oui	Forêt sèche	2006	Cardiff	RSA
Antsiranana II	Andavakabe				1600	Occupé	oui	Forêt sèche	2006	Cardiff	RSA
Antsiranana II	Andavadrano				1600	Occupé	oui	Forêt sèche	2006	Cardiff	RSA
Antsiranana II	Grotte des Chauve-souris	E49°07'00.0"	S12°57'00.0"			Occupé		Forêt sèche	2000	TFF	RSA
Antsohihy	Lavaka Ampaheto	E47°14'26.0"	S15°05'55.7"			Occupé		Savanne et forêt sèche		MV	
Fenerive-Est	Mahambo	E49°08'43.0"	S17°19'52.5"	208 m		Abandonné	no	Forêt humide	2006	MV	CAZ
Fort-Dauphin	Fort-Dauphin	E47°07'16.5"	S24°19'30.8"	143 m	400	Occupé		Forêt humide	2006	MV	
Fort-Dauphin	Vohidraharaha	E47°04'17.9"	S24°11'35.1"	143 m		Occupé	oui	Forêt humide	2005	MV	
Ivohibe	Tsitondroina	E47°12'00.0"	S22°48'00.0"			Occupé		Forêt humide	2000	TFF	

Mahajanga II	Anjohibe	E46°53'10.3"	S15°32'25.9"	133 m	600	Occupé		Savanne et forêt sèche	2006	MV	
Mahajanga II	Anjohibe	E46°53'05.9"	S15°32'39.5"			Occupé		Savanne et forêt sèche	2000	TFF	
Mananjary	Analamijery	E47°50'00.0"	S21°22'00.0"			Occupé	no	Savanne et forêt humide	2000	TFF	
Mandritsara	Ambavatafondro	E48°47'04.0"	S17°27'07.2"	874 m		Abandonné	oui	Forêt humide	2006	MV	CAZ
Mandritsara	Andavamanavy	E48°45'43.9"	S17°25'25.0"	846 m	10	Occupé	oui	Forêt humide	2006	MV	CAZ
Manja	Betsioky	E44°22'46.7"	S23°43'23.8"	407 m		Abandonné	oui	Savanne et forêt sèche	2007	MV	
Mitsinjo	Madiromasina	E46°00'14.0"	S16°00'39.9"	42 m	5000	Occupé		Forêt sèche	2006	MV	
Moramanga	Maromizaha	E48°27'08.6"	S18°57'43.6"	1110 m	300	Occupé	no	Forêt humide	2005	LFR	
Moramanga	Andavabatomaimbo	E47°35'01.8"	S18°25'48.6"	1000 m	700	Occupé	oui	Forêt humide	2004	MV	
Tamatave II	Ambodiara	E48°31'27.6"	S18°02'25.9"	413 m	20	Occupé	oui	Forêt humide	2006	MV	CAZ
Tamatave II	Horifatra	E48°33'37.9"	S18°02'05.0"	330 m	60	Occupé	oui	Forêt humide	2006	MV	CAZ
Tamatave II	Tohidava	E49°00'10.9"	S18°04'29.8"	176 m	150	Occupé	oui	Forêt humide	2006	MV	CAZ
Vavatenina	Ambodimanga	E48°50'24.8"	S17°30'48.3"	771 m		Abandonne	oui	Forêt humide	2006	MV	CAZ
Sainte-Marie	Ankarena				300	Occupé	Oui	Forêt humide	2006	R & G	
Vavatenina	Salangina	E48°55'14.7"	S17°27'02.3"	499 m		Abandonné	oui	Forêt humide	2006	MV	CAZ
Vohibinany	Manandrazana	E48°57'40.0"	S18°21'11.0"	370 m	200	Occupé	oui	Forêt humide	2006	MV	CAZ
Vohibinany	Ambodin'ny Mavorongy	E48°57'26.0"	S18°19'10.0"	330 m	150	Occupé	oui	Forêt humide	2006	MV	CAZ
Vohibinany	Sandranady	E48°39'09.2"	S18°44'39.6"	379 m	100	Occupé	oui	Forêt humide	2006	MV	CAZ
Vondrozo	Retsetso	E47°16'00.0"	S23°03'00.0"			Occupé		Forêt humide dégradee	2000	TFF	

AM : Association Mbarakaly

CAZ : Corridor Ankeniheny Zahamena

G M : Greg Middleton

LFR : Lamin'Asa Fiarovana Ramanavy

MV : Madagasikara Voakajy

PNB : Parc National de Bemaraha

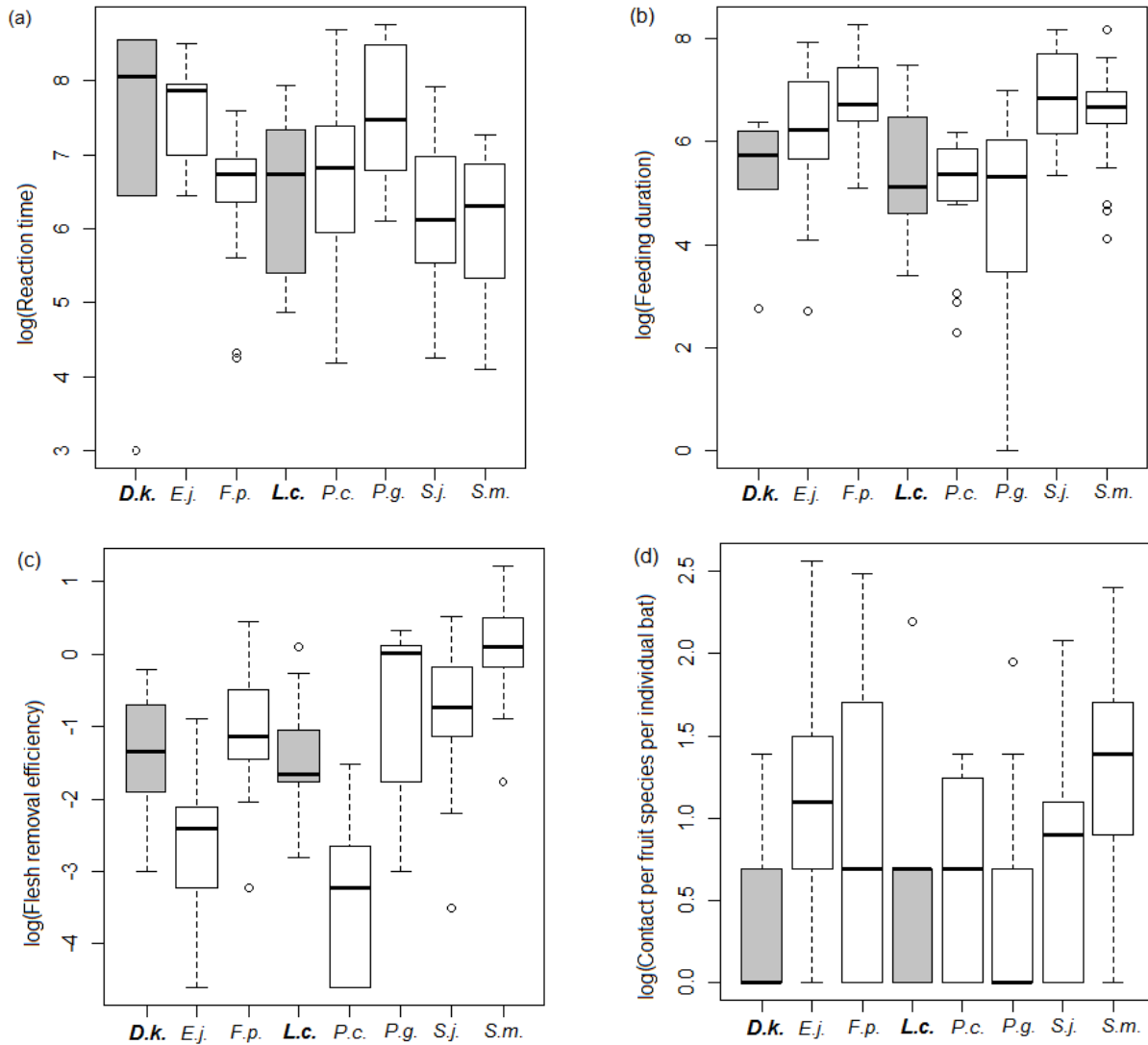
R & G : Eddy N. Rakotonandrasana and Steven M. Goodman

RSA : Reserve Spécial d'Ankarana

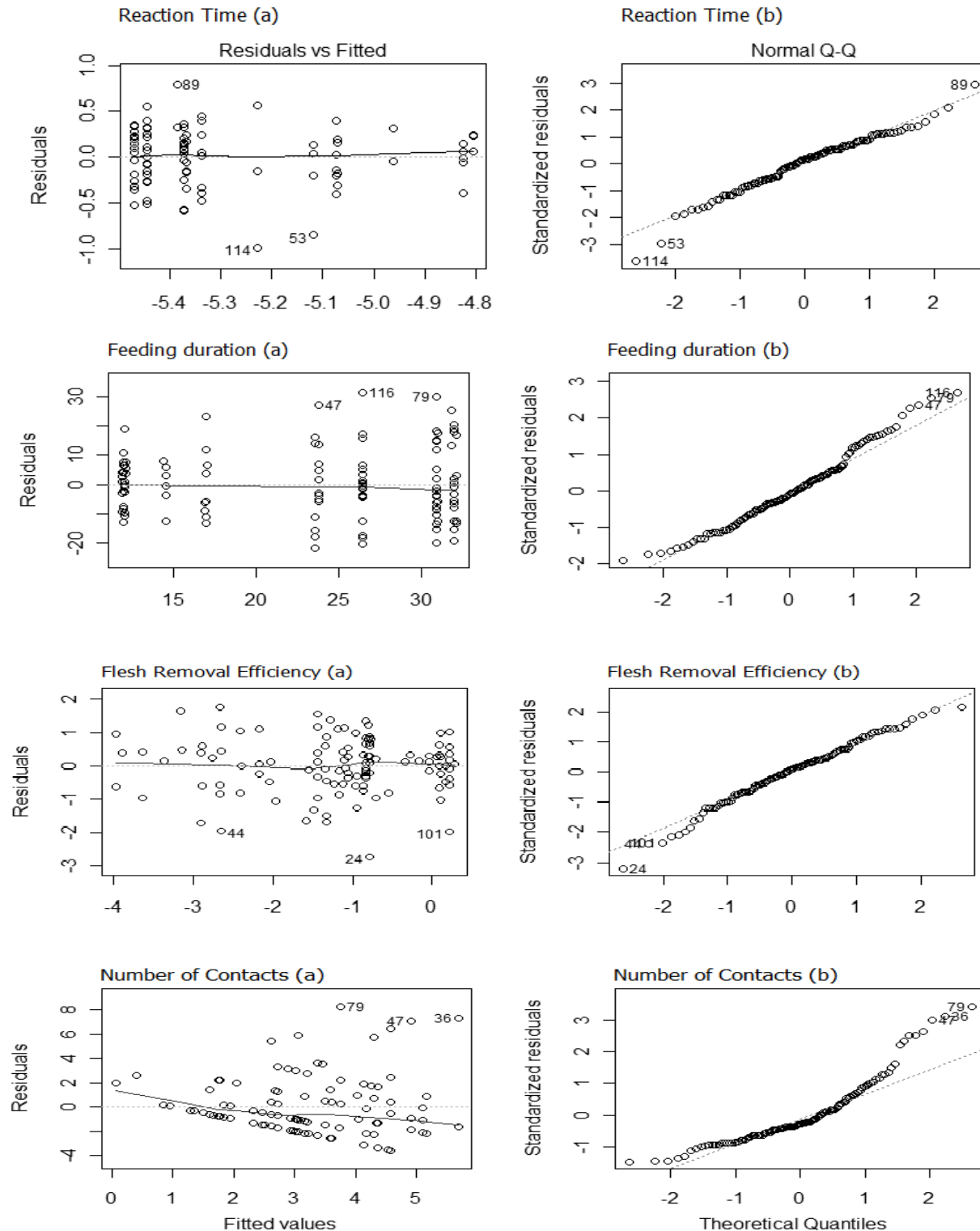
SAPM : Système des Aires Protégées de Madagascar

TFF : Tetik'Asa Fikajiana Fanihy

Annexe 2 : Fruit species preference as a function of the log transformed Reaction Time (a), Feeding Duration (b), Flesh Removal Efficiency (c) and Number of Contacts (d) per fruit species and per individual bat data. Bold horizontal lines were the medians, the bottom side and upper side of the box represented the minimum and maximum quartiles respectively. The lowest and higher lines were the minimum and maximum measures. Bold letters and filled gray boxes represented the commercially important fruit species. Abbreviations : *D.k.* *Diospyros kaki*, *E.j.* *Eugenia jambolana*, *F.p.* *Ficus polita*, *L.c.* *Litchi chinensis*, *P.c.* *Psidium cattleianum*, *P.g.* *P. guajava*, *S.j.* *Syzygium jambos*, *S.m.* *S. malaccense*.



Annexe 3 : Linear model (Residuals vs Fitted) checking of the log transformed data using fruit species as an explanatory variable. Reaction time (a), Feeding duration (a), Flesh removal efficiency (a) and Number of contacts (a) represented the plot of the residuals against the fitted value for the four variables.



Assessment of the model parameters affecting the choose to models

Each of the residuals against fitted graphs for the three response variables (Reaction time, Feeding duration, and Flesh removal efficiency) showed straight line or constancy of variance suggested systematic adequacy in the structure of the linear model and data transformation as we assumed. But for the Number of contacts per individual bat and fruit species, the graph showed that the fitted values greater than five forced the regression line to decline (Number of contact, a), so the log transformation and/or the linear model would not be the preferential model here.

The normal-QQ plots for the four responses variables showed straight lines suggesting that the transformed data and the errors resulting from the model were normally distributed. Although Feeding reaction and Number of contacts per individual bat and fruit species (number of contacts, b) Showed normal regression lines but with points deviating up from the line at the right side of the graph, the deviation was caused by a few circumstances when the bat chewed more fruit mass than their bat body mass and when the number of contacts were exaggerated.

Annexe 4 : Position géographique, année et site de capture de *Rousettus madagascariensis* (Madagascar) et *R. obliuosus* (Comores)

Site	Localité	District	Année	Effectif en saison		Altitude n = m	Longitude et Latitude n = degré, minute, second	
				Sèche	Humide			
Est	Anosibe An'Ala	Anosibe An'Ala	2007 ; 2008 ; 2009 ; 2010	467	1142	594 611 697 821 1087	E48°12'19.3" E47°59'32.6" E48°18'44.0" E48°01'43.6" E47°57'41.2"	S19°27'13.9" S19°27'44.4" S19°32'24.2" S19°21'48.8" S19°30'13.4"
	Maromizaha	Moramanga	2004 ; 2005	77	98	1073	E48°27'17.1"	S18°57'45.5"
Nord-est	Sainte-Marie	Sainte-Marie	2006	0	23	21 2 70 60 50 3 6 22 10	E49°51'19.8" E49°52'20.4" E49°53'03.6" E49°54'08.4" E49°55'02.4" E49°55'41.4" E49°56'07.8" E49°56'51.6" E49°57'22.2"	S17°20'54.6" S16°54'9.6" S16°56'16.2" S16°56'51" S16°54'30.6" S16°48'58.2" S16°48'43.2" S16°51'21" S16°48'5.4"
	Tampolo	Fenerive-Est	2004	0	3	10	E49°24'0"	S17°18'0"
Nord	Analamera	Antsiranana II	2004	0	15	200 90 40	E49°22'04.8" E49°28'24.6" E49°29'34.8"	S12°47'42" S12°42'43.2" S12°45'0"
	Ankarana	Ambilobe	2001 ; 2002 ; 2003	17	9	40 50 125 100 100	E49°33'17.1" E49°34'12" E49°38'60" E49°07'04.8" E49°07'05.1"	S12°56'37.1" S12°55'55.2" S13°15'36" S12°57'22.2" S12°57'22.8"
	Nosy Be	Nosy Be	2006	0	50	15 210 260 35 60 10 40	E48°14'52.2" E48°14'30.6" E48°14'03.6" E48°15'50.4" E48°15'19.2" E48°18'10.2" E48°18'12"	S13°23'50.4" S13°20'24.6" S13°18'54" S13°23'33" S13°22'31.8" S13°24'25.2" S13°24'30.6"
Nord-ouest	Anjanjavy	Analalava	2004	0	6	50	E47°12'10.2"	S15°11'25.2"
	Anjohibe	Mahajanga	2006/2007	601	0	133	E46°53'10.3"	S15°32'25.9"
	M. Kinkony	Mitsinjo	2006	0	40	33 42 43 34 43	E45°48'25.9" E45°52'24.8" E45°54'56.4" E45°56'10.6" E46°00'23.0"	S16°02'36.8" S16°05'09.9" S16°03'22.1" S16°03'30.0" S16°01'56.6"
Ouest	Antsalova	Antsalova	3003 ; 2005 ; 2006	98	13	64 128 150	E44°48'26.6" E44°48'47.8" E44°46'52.3"	S19°08'12.2" S19°08'36.3" S19°08'59.7"

	Bemaraha	Antsalova	2001 ; 2003 ; 2005 ; 2006	248	153	100 139 128 64	E44°48'31.4" S19°07'52.1" E44°46'07.3" S19°00'43.0" E44°48'43.9" S19°08'27.2" E44°48'20.3" S19°08'12.3"
	Namoroka	Soalala	2002 ; 2003 ; 2004	108	0	89 110 84 120 85 125	E45°17'48.7" S16°24'00.6" E45°18'25.2" S16°24'25.2" E45°18'05.1" S16°23'56.6" E45°24'43.2" S16°26'26.4" E45°20'34.6" S16°22'56.5" E45°22'26.7" S16°28'12.2"
Sud-est	Andringitra	Ambalava	2001	1	0	720	E47°15'00" S22°13'19.2"
	Kianjavato	Mananjary	2007/2008	10	10	254	E47°52'14.1" S21°22'50.7"
TOTAL				1627	1562		

Annexe 5 : Mesures des dix critères morphométriques des individus adultes de *Rousettus madagascariensis* dans les six sites biogéographiques chez les deux sexes (M = mâles ; F = femelles) au cours des saisons sèche (S) et humide (H). Les femelles gestantes sont exclues des analyses. Le tiré symbolise l'absence de mensuration dans le site biogéographique respectif.

	Sexe	Saison	Est	Nord	Nord-ouest	Ouest	Sud-est	Nord-est
Masse corporelle n = g	Mâle	S	72.68±6.60 n = 122	63.15±7.99 n = 2	63.71±4.82 n = 113	67.03±7.03 n = 55	66.20±10.79 n = 3	-
		H	72.70±6.34 n = 309	65.91±4.32 n = 22	69.13±3.53 n = 8	71.92±5.68 n = 73	62.82±7.50 n = 4	64,25±9,24 n = 4
	Femelle	S	60.14±4,70 n = 51	50.80±0.17 n = 3	52.95±5.25 n = 146	52.83±7.64 n = 48	66.70±6.10 n = 5	-
		H	66,84±9,57 n = 94	55.03±5.14 n = 19	57.12±4.51 n = 18	62.56±6.82 n = 27	63.40±2.26 n = 2	58,10±6,13 n = 5
Résidu masse-avant-bras	Mâle	S	5,82±5,90 n = 118	-5,17±8,44 n = 2	-5,27±4,18 n = 111	-0,29±6,74 n = 53	-1,50±7,90 n = 3	-
		H	5,65±5,80 n = 308	-3,13±4,35 n = 22	-2,09±2,17 n = 8	3,73±4,75 n = 73	-3,42±5,01 n = 4	-1,19±4,92 n = 4
	Femelle	S	-4,00±5,02 n = 49	-15,62±1,28 n = 3	-13,40±4,95 n = 145	-10,42±5,66 n = 48	-0,41±7,31 n = 5	-
		H	1,74±9,17 n = 94	-9,11±7,01 n = 19	-10,01±4,57 n = 18	-0,96±4,52 n = 87	-2,04±0,64 n = 2	-5,43±5,89 n = 5
Avant bras n = mm	Mâle	S & H	71.93±2.11 n = 1091	73.27±2.35 n = 24	73.40±1.87 n = 120	71.61±2.33 n = 127	72.24±2.26 n = 7	70,50±1,73 n = 4
	Femelle	S & H	69.74±2.53 n = 479	69.73±3.41 n = 23	71.34±2.16 n = 165	71.42±1.31 n = 116	69.62±2.94 n = 7	69,00±3,60 n = 7
Longueur : corps	Mâle	S & H	118.20±5.84 n = 46	129.13±4.57 n = 23	131.67±2.89 n = 3	-	-	115,50±4,93 n = 4
	Femelle	S & H	117.50±5.02 n = 20	122.76±4.91 n = 21	125.58±4.23 n = 12	-	-	119,14±6,47 n = 7
Longueur : queue	Mâle	S & H	14,43±2,49 n = 46	14,48±1,41 n = 23	17,67±4,61 n = 3	-	-	14,25±0,50 n = 4
	Femelle	S & H	13,14±2,08 n = 20	14,42±0,67 n = 21	15,58±1,56 n = 12	-	-	13,86±1,07 n = 7
Longueur : pied	Mâle	S & H	16,46±2,21 n = 46	13,78±1,08 n = 23	15,41±1,60 n = 13	14,30 n = 1	17,82±1,52 n = 14	13,00±0,82 n = 4
	Femelle	S & H	15,18±2,52 n = 20	13,48±1,16 n = 21	15,10±1,77 n = 31	15,30 n = 1	16,23±2,43 n = 17	12,71±0,49 n = 7
Longueur : oriel	Mâle	S & H	15,45±1,88 n = 46	17,22±1,00 n = 23	16,88±1,74 n = 8	15,00 n = 1	15,78±2,53 n = 12	16,50±0,58 n = 4
	Femelle	S & H	15,80±1,09 n = 20	16,57±0,87 n = 21	17,05±1,36 n = 23	17,00 n = 1	15,78±2,94 n = 17	16,71±0,76 n = 7
Longueur : 5 ^e doigt	Mâle	S & H	-	-	46,38±1,93 n = 10	48,02±2,25 n = 14	46,30 n = 1	-
	Femelle	S & H	-	-	46,36±6,26 n = 19	45,06±2,11 n = 17	47,30 n = 1	-
Envergure	Mâle	S & H	469.40±15,73 n = 60	-	-	-	-	-
	Femelle	S & H	458.13±15,79 n = 48	-	-	467.71±15,03 n = 7	-	-
Longueur : Tibia	Mâle	S & H	-	-	35,09±1,38 n = 10	33,23±1,90 n = 14	34,10 n = 1	-
	Femelle	S & H	-	-	32,83±1,18 n = 19	30,20±2,95 n = 26	35,10 n = 1	-

Annexe 6 : Mesures des dix critères morphométriques des individus de *Rousettus madagascariensis* dans les quatre intervalles d'altitude où ils ont été capturés. 'S et H' représentent respectivement la saison sèche et la saison humide et 'n' l'effectif capturé. Les femelles gestantes sont exclues des analyses. Le tiré symbolise l'absence de mensuration dans le site géographique respectif.

	Sexe	Saison	0-100m	101-300m	500-1000m	1001-1087m
Masse corporelle (g)	Mâle	S	61.81±4.63 ; n = 31	65.45±5.96 ; n = 142	72,07±7,94 ; n = 45	73,05±5,71 ; n = 77
		H	66.17±4.93 ; n = 36	71.72±5.77 ; n = 75	74,44±5,87 ; n = 200	69,71±5,87 ; n = 105
	Femelle	S	51.74±6.74 ; n = 54	53.77±5.99 ; n = 148	61,13±5,03 ; n = 16	59,69±4,55 ; n = 35
		H	56.27±5,86 ; n = 39	62,04±6,31 ; n = 32	67,92±6,62 ; n = 40	66,84±11,22 ; n = 49
Résidus masse-avant-bras	Mâle	S	-5.91±3.99 ; n = 28	-3.19±5.85 ; n = 141	5,26±6,71 ; n = 42	6,12±5,41 ; n = 76
		H	-2.76±4.10 ; n = 36	3.60±4.80 ; n = 75	7,13±5,37 ; n = 200	3,09±5,55 ; n = 104
	Femelle	S	-12.04±5.90 ; n = 54	-12.52±5.54 ; n = 147	-1,23±5,75 ; n = 14	-5,11±4,30 ; n = 35
		H	-8,52±5,63 ; n = 39	-2,44±6,34 ; n = 32	3,85±6,32 ; n = 40	0,74±10,85 ; n = 49
Avant bras (mm)	Mâle	S & H	72.80±2.44 ; n = 65	72.78±2.13 ; n = 217	72,05±2,10 ; n = 832	71,49±2,09 ; n = 255
	Femelle	S & H	69.69±3.12 ; n = 107	70.99±2.39 ; n = 211	69,51±2,65 ; n = 304	70,19±2,22 ; n = 168
Longueur corps	Mâle	S & H	126,44±6,50 ; n = 26	131,29±5,50 ; n = 7	118,45±5,91 ; n = 42	-
	Femelle	S & H	121,42±5,39 ; n = 23	125,86±4,02 ; n = 14	116,62±4,07 ; n = 13	-
Longueur queue (mm)	Mâle	S & H	14,74±2,14 ; n = 23	14,86±1,57 ; n = 7	14,45±2,60 ; n = 42	-
	Femelle	S & H	14,58±1,30 ; n = 26	14,86±1,10 ; n = 14	12,75±2,42 ; n = 13	-
Longueur pied (mm)	Mâle	S & H	15,03±2,34 ; n = 40	15,47±1,63 ; n = 15	16,79±2,11 ; n = 42	-
	Femelle	S & H	14,84±2,34 ; n = 53	14,37±1,23 ; n = 24	16,51±2,11 ; n = 13	-
Longueur oriel (mm)	Mâle	S & H	16,46±1,70 ; n = 35	17,31±1,56 ; n = 13	15,35±1,94 ; n = 42	-
	Femelle	S & H	16,30±1,90 ; n = 45	17,03±1,41 ; n = 24	15,31±0,92 ; n = 13	-
Longueur : 5 ^e doigt (mm)	Mâle	S & H	47,38±2,05 ; n = 17	47,13±2,68 ; n = 8	-	-
	Femelle	S & H	46,12±5,45 ; n = 27	44,90±1,08 ; n = 10	-	-
Envergure (mm)	Mâle	S & H	-	-	-	469,40±15,73 ; n = 60
	Femelle	S & H	467,71±15,03 ; n = 7	-	-	458,13±15,79 ; n = 48
Longueur Tibia (mm)	Mâle	S & H	34,21±1,79 ; n = 17	33,57±2,11 ; n = 8	-	-
	Femelle	S & H	31,39±2,17 ; n = 33	31,41±3,90 ; n = 13	-	-

Annexe 7 : Effectif des femelles adultes selon les conditions de reproduction et des autres classes d'âge de deux sexes des 14 sites de capture de *Rousettus madagascariensis* entre 2001 et 2010.
« Allait/Allait & né » signifie femelles adultes allaitantes et celles accompagnées des nouveau-nés et «-» est utilisé pour les données manquantes.

Site géographique		-----Est----- -----	--Nord- est-----	-----Nord--- ----	---Nord-ouest----- --	S- E	--Ouest- -								
Mois	Condition de reproduction	Anosibe An'Ala	Maromizaha	Sainte-Marie	Tampolo	Ankarana	Analamera	Nosy Be	Anjanjavy	Anjohibe	M. Kinkony	Namoroka	Kianjavato	Antsalova	Benaraha
novembre	Juvéniles	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	3
	Immatures	31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	5	27
	Parturientes	98	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	5
	Gestantes	101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	5	44
	Allait/Allait & né	1/0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
décembre	Juvéniles	0	0	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-
	Immatures	0	0	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
	Parturientes	0	0	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	Gestantes	0	3	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-
	Allait/Allait & né	0/2	7	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-
janvier	Juvéniles	0	6	-	-	0	3	-	-	-	-	-	-	-	-
	Immatures	0	15	-	-	1	6	-	-	-	-	-	-	-	-
	Parturientes	3	10	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gestantes	0	0	-	-	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	Allait/Allait & né	5/29	5	-	-	0	4	-	-	-	-	-	-	-	-
février	Juvéniles	1	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	0
	Immatures	14	-	-	-	-	-	13	-	-	-	-	-	-	0
	Parturientes	37	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	0
	Gestantes	1	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	0
	Allait/Allait & né	13/31	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	1
mars	Juvéniles	0	5	0	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-
	Immatures	14	8	4	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-
	Parturientes	26	9	1	-	-	-	-	-	-	16	-	-	-	-
	Gestantes	1	0	0	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-
	Allait/Allait & né	3/2	0	0	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-

avril	Juvéniles	-	-	2	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	Immatures	-	-	7	0	6	-	-	-	-	-	-	-	-
	Parturientes	-	-	1	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gestantes	-	-	3	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	Allait/Allait & né	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
mai	Juvéniles	-	1	-	-	1	-	-	-	3	-	-	-	-
	Immatures	-	11	-	-	4	-	-	-	71	-	-	-	-
	Parturientes	-	4	-	-	0	-	-	-	18	-	-	-	-
	Gestantes	-	0	-	-	3	-	-	-	1	-	-	-	-
	Allait/Allait & né	-	0	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-	-
Juin	Juvéniles	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	11
	Immatures	1	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	77
	Parturientes	7	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	3
	Gestantes	0	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	0
	Allait/Allait & né	0/1	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	1
Juillet	Juvéniles	14	0	-	-	0	-	-	-	20	-	-	-	0
	Immatures	34	5	-	-	3	-	-	-	171	-	-	-	5
	Parturientes	61	10	-	-	0	-	-	-	47	-	-	-	10
	Gestantes	0	0	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-	0
	Allait/Allait & né	7/4	0	-	-	0	-	-	-	14	-	-	-	0
Août	Juvéniles	-	-	-	-	-	-	-	-	16	-	-	-	9
	Immatures	-	-	-	-	-	-	-	-	90	-	-	-	22
	Parturientes	-	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-	31
	Gestantes	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	0
	Allait/Allait & né	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	-	-	0
Septembre	Juvéniles	-	-	-	-	-	-	-	-	10	1	-	-	-
	Immatures	-	-	-	-	-	-	-	-	10	1	-	-	-
	Parturientes	-	-	-	-	-	-	-	-	7	0	-	-	-
	Gestantes	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	-	-	-
	Allait/Allait & né	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	-	-	-
Octobre	Juvéniles	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	17	1	0
	Immatures	2	10	-	-	-	-	-	-	-	-	42	2	5
	Parturientes	8	5	-	-	-	-	-	-	-	-	11	4	5
	Gestantes	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	20	0	0
	Allait/Allait & né	0/0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0

VU :

Le Directeur de Thèse
(Eric J. PETIT)

VU :

Le Responsable de l'École Doctorale

VU pour autorisation de soutenance

Rennes, le

Le Président de l'Université de Rennes 1

Guy CATHELINEAU

VU après soutenance pour autorisation de publication :

Le Président de Jury,